

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 7 月 8 日 第 21 卷 第 19 期 (Volume 21 Number 19)



19/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张坚坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年7月8日 第21卷 第19期 (总第423期)

述 评	1791 肝癌发生机制的探索以及分子靶向治疗的契机与挑战 王 阁, 张志敏
临 床 研 究	1797 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎患者的回顾性分析 徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉 1803 超声检查对于胰腺实性假乳头状瘤诊断的价值 蔡迪明, 李永忠, 马步云, 凌文武, 姜勇, 张凌燕, 钟晓绯, 张静漪, 宋彬 1811 ERCP术前胆总管结石诊断238例 陈勇, 曾艳凌, 林志辉
文 献 综 述	1817 胰腺创伤的诊断与治疗 吕海旭, 钟翔宇, 崔云甫 1823 心理因素在溃疡性结肠炎中的作用及机制 张云云, 王志荣 1828 痔外剥内扎术后的解痉治疗 邓志灏, 赵宝明 1834 microRNAs调控消化系肿瘤多药耐药的研究进展 潘树芳, 隋华, 李琦, 石晓兰
研 究 快 报	1841 持续正加速度对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响 陈璐, 陈英, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静, 杨春敏 1847 利用miRNA芯片分析酒精刺激肝癌细胞株miRNA表达谱的差异 桂照华, 汪心怡, 陈吉, 陈卓, 赵华, 汪思应 1853 光动力疗法促进胆管癌细胞QBC939的凋亡 姜海涛, 曹景玉, 韩瑞, 王云玲, 范友杰, 李衍彦, 隋爱华 1859 siRNA沉默KAP-1表达抑制胰腺癌细胞PANC-1的侵袭能力 江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊
临 床 经 验	1866 内镜黏膜下剥离术在胃肠黏膜病变治疗中的价值 张春霞, 宫爱霞, 孙颖, 刘艳洁, 夏楠, 冷敬, 葛林梅 1871 不同人工肝方法治疗乙型肝炎肝衰竭的疗效对比分析 刘风华, 贺玉凯, 李庆方, 王思奎 1877 胰腺癌中LIF的表达及其临床病理学意义 彭飞, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明 1882 功能性消化不良患者针刺治疗后对针刺足三里脑的响应 李政杰, 曾芳, 杨玥, 张丹华, 陈媛, 孙金铂, 秦伟, 杨洁, 梁繁荣 1888 炎症性肠病患者病理特点430例 黄华丽, 缪应雷, 唐召力, 王光耀 1893 肾移植术后直肠及肛门恶性肿瘤的诊治 梁玉梅, 管静芝, 李宁
病 例 报 告	1899 贾第虫病1例 夏菲, 杨巍, 王雪莲, 李智伟

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1810 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1816 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1822 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1840 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1846 《世界华人消化杂志》外文字符标准 1852 《世界华人消化杂志》正文要求 1865 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1876 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1881 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1892 《世界华人消化杂志》出版流程 1898 2012年度《世界华人消化杂志》发文情况
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 王阁, 教授, 400042, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-07-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

July 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 19

EDITORIAL	1791 Molecular mechanisms underlying the development of hepatocellular carcinoma and molecular targeted therapy <i>Wang G, Zhang ZM</i>
CLINICAL RESEARCH	1797 A retrospective study of peginterferon plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in patients who had undergone previous antiviral therapy <i>Xu QN, Yang ZG, Lu YF, Chen XR</i> 1803 Diagnostic value of ultrasound in detection of solid pseudopapillary tumor of the pancreas <i>Cai DM, Li YZ, Ma BY, Ling WW, Jiang Y, Zhang LY, Zhong XF, Zhang JY, Song B</i> 1811 Diagnosis of common bile duct stones before ERCP: An analysis of 238 cases <i>Chen Y, Zeng YL, Lin ZH</i>
REVIEW	1817 Diagnosis and treatment of traumatic pancreatic injuries <i>Lv HX, Zhong XY, Cui YF</i> 1823 Role of psychological factors in pathogenesis of ulcerative colitis <i>Zhang YY, Wang ZR</i> 1828 Spasmolysis therapy after Milligan-Morgan haemorrhoidectomy <i>Deng ZH, Zhao BM</i> 1834 Progress in understanding role of microRNAs in multidrug resistance in digestive system cancers <i>Pan SF, Sui H, Li Q, Shi XL</i>
RAPID COMMUNICATION	1841 Effect of persistent positive acceleration on the quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer <i>Chen L, Chen Y, Fan Q, Han QL, Tang HL, Li J, Yang CM</i> 1847 MiRNA expression profiling of alcohol-stimulated liver cancer cell lines using miRNA chips <i>Gui ZH, Wang XY, Chen J, Chen Z, Zhao H, Wang SY</i> 1853 Photodynamic therapy promotes apoptosis of cholangiocarcinoma QBC939 cells <i>Jiang HT, Cao JY, Han R, Wang YL, Fan YJ, Li YY, Sui AH</i> 1859 siRNA-mediated silencing of KAP-1 expression inhibits invasion of human pancreatic cancer PANC-1 cells <i>Jiang JX, Zhan L, Huang Y, He YZ, Sun CY</i>
CLINICAL PRACTICE	1866 Value of endoscopic submucosal dissection in treatment of gastrointestinal mucosal lesions <i>Zhang CX, Gong AX, Sun Y, Liu YJ, Xia N, Leng J, Ge LM</i> 1871 Comparative study of efficacy of different types of artificial liver treatments in management of hepatitis B-associated liver failure <i>Liu FH, He YK, Li QF, Wang SK</i> 1877 Clinicopathological significance of expression of leukemia inhibitory factor in human pancreatic ductal adenocarcinoma <i>Peng F, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M</i> 1882 Cerebral responses to puncturing at ST36 after acupuncture treatment in patients with functional dyspepsia <i>Li ZJ, Zeng F, Yang Y, Zhang DH, Chen Y, Sun JB, Qin W, Yang J, Liang FR</i> 1888 Pathological characteristics of IBD: An analysis of 430 cases <i>Huang HL, Miao YL, Tang ZL, Wang GY</i> 1893 Diagnosis and treatment of rectal or anal carcinoma after renal transplantation <i>Liang YM, Guan JZ, Li N</i>
CASE REPORT	1899 A case of giardiasis <i>Xia F, Yang W, Wang XL, Li ZW</i>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ge Wang, Professor, Chief Physician, Cancer Center, Institute of Surgical Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date July 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

肝癌发生机制的探索以及分子靶向治疗的契机与挑战

王 阁, 张志敏

王阁, 张志敏, 第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心 重庆市 400042

王阁, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事肝癌发生分子机制以及肿瘤放射治疗的基础和临床研究。

国家自然科学基金面上基金资助项目, No. 81272498

作者贡献分布: 王阁负责文章整体设计与撰写; 张志敏负责相关资料的收集和整理。

通讯作者: 王阁, 教授, 主任医师, 400042, 重庆市渝中区大坪长江支路10号, 第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心。

wangge70@hotmail.com

电话: 023-68757161

收稿日期: 2013-04-19 修回日期: 2013-05-26

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

Molecular mechanisms underlying the development of hepatocellular carcinoma and molecular targeted therapy

Ge Wang, Zhi-Min Zhang

Ge Wang, Zhi-Min Zhang, Cancer Center, Institute of Surgical Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81272498

Correspondence to: Ge Wang, Professor, Chief Physician, Cancer Center, Institute of Surgical Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, 10 Daping Changjiang Zhilu, Yuzhong District, Chongqing 400042, China. wangge70@hotmail.com

Received: 2013-04-19 Revised: 2013-05-26

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

Hepatocellular carcinoma is one of the most common malignant tumors worldwide and remains one of leading causes of death from cancer in China. Hepatocarcinogenesis is a complex process associated with many environmental risk factors, including cellular and molecular signaling pathways, oncogenes and tumor suppressor genes, and the differentiation of cancer stem cells. Molecular targeted therapy is a new approach to the treatment of liver cancer. The main mechanism of therapy is a type of medication that blocks the growth of cancer cells by interfering with specific targeted molecules needed for carcinogenesis and tumor growth, which can enhance the specificity and selectivity of the treatment. In this review, we discuss recent advances in the understanding

of molecular mechanisms underlying the development of HCC and in the development of novel cancer therapeutics.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Molecular targeted therapy; Development

Wang G, Zhang ZM. Molecular mechanisms underlying the development of hepatocellular carcinoma and molecular targeted therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1791-1796 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1791>

摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重危害我国人民健康的恶性肿瘤。他的发生机制是极其复杂的生物学过程, 涉及了外环境致癌和内环境遗传等诸多因素作用, 包括细胞分子信号传导通路的激活、原癌基因与抑癌基因博弈以及肿瘤干细胞分化等。分子靶向治疗是肝癌治疗中的新尝试, 主要是针对肝癌发生微环境中特殊的分子异常发展出来的干预药物, 作用于肝癌发生中起关键作用的靶分子及其调控的信号转导通路, 增强抗癌治疗的特异性和选择性, 为未来肝癌治疗开辟了新局面。本文整理了目前HCC发生的相关分子机制及其分子靶向治疗研究进展, 并探讨该领域存在的相关问题。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝细胞肝癌; 分子靶向治疗; 进展

核心提示: 肝癌发生发展的分子机制复杂, 涉及了多种信号转导通路和关键分子的调控作用, 目前针对肿瘤的分子靶向药物众多, 但是缺乏特异性的肝癌分子靶向药物。本文总结了临床上可能有益于肝癌治疗的分子靶向药物, 并以此为平台期待未来诞生出更具特异性和有效性的肝癌新分子靶向药物。

王阁, 张志敏. 肝癌发生机制的探索以及分子靶向治疗的契机与挑战. *世界华人消化杂志* 2013; 21(19): 1791-1796 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1791.asp>

■背景资料

本文归纳总结肝癌发生的分子机制及肝癌分子靶向治疗应用的最新进展, 意在解读目前肝癌治疗的现状和瓶颈问题, 为未来肝癌的分子靶向治疗提供可能的发展方向。

■同行评议者

赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室

■相关报道

肝癌分子靶向药物的临床试验结果很值得期待,特别是Brivanib作为肝癌进展后的二线治疗方案的相关研究进展,其为未来肝癌分子的靶向治疗提供临床参考数据。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1791.asp> DOI:
<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1791>

0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重危害人类健康的全球性肿瘤,我国是受肝癌威胁最大的国家之一,约占全球肝癌死亡率的50%。目前外科手术仍是提高肝癌生存率的有效手段,而手术切除率低,复发率和转移率高也是影响肝癌临床疗效的主要问题^[1,2]。分子靶向治疗是肝癌治疗的新方向,其基础是HCC致癌机制的进展,是源于肝癌发展的分子生物学过程而设计和完善的新型药物治疗方法。而探讨肝癌发生机制并明确重要的靶分子是应用分子靶向药物治疗肝癌的理论基础。因此,本文重点论述了肝癌发生机制,并探讨分子靶向药物在HCC未来发展的潜力和面临的挑战。

1 肝癌发生的分子机制-寥若晨星

近几年,肿瘤发生机制的研究进展迅速,有许多新的理论和机制被提出和证明。然而肝癌的发生机制研究进展相对缓慢,真正的转化研究更少,可以毫不夸张的说肝癌的分子机制仍然是目前肿瘤研究的一个难点,这与肝脏的特殊功能有着密切的联系。

1.1 原癌基因与抑癌基因的博弈 肿瘤发生的一个重要机制就是原癌基因和抑癌基因的博弈,包括癌基因的激活和抑癌基因的失活。原癌基因对细胞的分化发挥正调控作用,可以引起细胞进入增殖周期,阻止其分化和凋亡,一般在正常细胞中不表达或低水平表达。当其受到外界致癌因素,包括电离辐射、损伤、化学诱导等刺激后能发生突变活化为癌基因,促进细胞恶性转化,在肝癌中最常见的原癌基因包括*N-ras*基因和*HBV_x*基因等^[3,4]。抑癌基因也称为抗癌基因,是肿瘤易感基因或隐性基因,存在于正常细胞中,参与制约癌基因共同调控细胞生长和分化,其主要通过抑制细胞进入周期增殖,诱导终末细胞分化和细胞凋亡,维持基因稳定,具有抑制肿瘤生长的功能,肝癌中最常见的抑癌基因包括:*p53*、*Rb*基因、*p21*和*PTEN*等^[5-8]。

恶性肿瘤的生成是一个涉及多种原癌基因活化和抑癌基因失活的多步骤累积变化的过程,值得一提的是除了原癌基因与抑癌基因的博弈外,目前还发现了一些“可能”的抑癌基因参与了调控,这些基因具有抑癌基因功能,但是还

没有完全被证实为抑癌基因。他们在肿瘤发生发展中也扮演重要角色,例如:抗增殖基因家族成员B细胞迁移基因2(B-cell translocation gene-2, *BTG2*), *BTG2*基因定位于人体染色体1q32位点,编码蛋白158个氨基酸(分子量约17 kDa),其5'肋腹面(-74到-122)区域还含有野生型*p53*基因的反应元件,大量实验证明*BTG2*的活化需要依赖*p53*的活化^[9,10]。*BTG2*是早期反应基因家族成员,连接上游*p53*和下游细胞周期蛋白,抑制细胞增殖,在多种肿瘤中表达降低。我们前期研究显示*BTG2*在肝癌组织中表达显著降低,并与*p53*表达正相关,与细胞周期蛋白D1、细胞周期E蛋白表达呈负相关,而在肝癌形成的诱癌大鼠实验中,*BTG2*表达在肝癌形成早期显著增加,而在晚期降低,呈动态表达的趋势^[11]。*BTG2*具有抑癌基因功能,但由于其在肿瘤中缺乏突变的证据,因此还不能完全确定其就是抑癌基因,但众多功能研究显示其就是一个潜在的抑癌基因。当然,目前还有很多功能未知的原癌/抑癌基因,这些功能相克的基因在体内的博弈并达到最终的一种平衡是维持机体内环境稳定的重要调控方式之一,而一旦这种平衡被破坏,肿瘤也就可能形成。

1.2 分子信号通路异常活化 肿瘤信号转导的研究一直是肿瘤基础研究领域的热点,也是多种分子靶向治疗药物作用的理论基础。目前所知道的多种信号通路的异常活化参与了肝癌的发生与演化,而选择性阻断肿瘤细胞信号传导通路破坏其自控性生长调节机制是靶向药物发挥功能的基础,其中包括以下几种经典的信号转导通路。

1.2.1 Wnt信号通路: Wnt/ β -catenin信号通路是目前研究比较透彻的信号通路,常称之为Wnt经典信号通路,由Wnt蛋白、Wnt蛋白配体frizzled蛋白、相关调控蛋白如糖原合酶激酶3 β 、 β -catenin以及基因构成。研究发现Wnt/ β -catenin信号通路是生长发育过程中的重要信号通路,其异常活化与癌症的发生发展密切相关。主要是上游刺激激活该通路后,在Wnt蛋白与其配体结合后,募集细胞内的 β -catenin,活化并转移其入细胞核,与下游特异性转录因子LEF/TCF等结合,共同调控关键基因如cyclinD的转录,发挥细胞功能^[12,13]。在肝癌发病过程中,Wnt/ β -catenin信号通路异常活化是其重要的分子事件,在约90%的肝癌中可以检测到 β -catenin的异常^[14];Calvisi等^[15]报道在c-myc和TGF- β 转基因肝癌小鼠中,

β -catenin基因突变, 并且 β -catenin基因的激活可以促进肝癌的生长和转移; 而HBV和HCV病毒感染都可以引起 β -catenin水平的异常增高, 促进肝癌的发生^[16,17]。

1.2.2 Hedgehog信号通路: Hedgehog(Hh)信号通路也是目前发现的肝癌形成中的关键调控通路, 在哺乳动物中, Hh信号通路主要由Hedgehog配体、2个跨膜蛋白受体Ptch和Smo、核转录因子Gli以及下游目的基因组成。当Hh信号通路激活时, Hh配体与Ptch受体结合, 解除了Ptch对Smo的抑制效应, Smo进入细胞质激活下游转录因子Gli, 诱导目的基因表达, 调控细胞生长、增殖和分化。Hedgehog信号通路在肝癌中异常激活, 而在成熟的正常肝组织中无Hh信号通路表达^[18-20]。Sicklick等^[21]的研究提示Hh信号在人肝癌中功能失调, 并且发现Hh信号通路基因 Shh 、 $Ptch$ 、 Smo 和 $Gli1$ 高表达, 这种高表达激活在原癌基因 Smo 介导 $c-myc$ 基因表达中起着重要调节作用。Kim等^[22]发现在肝癌中通过抑制 $Gli2$ 基因的表达可以下调 $c-myc$ 、 $Bcl-2$ 和上调 $p27$ 的表达, 从而调节细胞周期, 抑制肝癌细胞的生长和增殖。

1.2.3 其他信号通路: 涉及肝癌的细胞信号传导通路还有很多, 包括: Notch信号通路^[23-25]、MAPK通路^[26-29]、AKT信号通路^[30-33]以及ERK信号通路^[34-37]等, 这些通路都是肝癌发生、发展中的重要调控通路。而通路中的许多基因调控点成为肿瘤靶向治疗的靶点被开发成药物应用于临床, 而针对这些通路设计的分子靶向药物可望成为肝癌治疗的新方向。

1.3 肝干细胞和肝癌干细胞 肿瘤干细胞理论是目前肿瘤发生发展和肿瘤治疗的重要理论基础, 许多证据显示人体内存在肿瘤干细胞。而肝癌干细胞的来源主要有两种学说支持: 一种认为肝癌干细胞来源于成熟肝细胞, 而另一种来源于肝内未分化的干细胞或卵圆细胞的异常分化, 当然后者的证据支持更加充足。肝癌既可发生于干细胞及其后代, 也可能发生于去极化的成熟肝细胞或胆管上皮细胞。Baumann等^[38]发现肝干细胞分化受阻决定原发性肝癌的发生及其病理多态性, 早期阶段受阻则表现为低分化肝癌, 其表型介于肝细胞癌与胆管细胞癌之间; 后期阶段受阻则表现为HCC或胆管细胞癌。新近, 美国肝病研究协会-亨利·莉莲·斯特拉顿基础研究单一主题会议发布了肝病和癌症中干细胞研究进展的报告, 重点讲述了肝干细胞和肝癌干细胞的鉴定、研究进展和临床转化。在肝干细胞研究中, 原始的肝祖

细胞(liver progenitor cells, LPCs)的分离、肝祖细胞和多能性干细胞的分化, 疾病特异性肝干细胞的转分化及其临床转化被重点论述; 而肿瘤原始干细胞样细胞(tumor-initiating stem-like cells, TISCs)的出现及其一些信号传导蛋白, 例如转化生长因子 β 、 β -catenin以及原始的肝祖细胞标志物等的异常是慢性肝损害和肝癌的潜在标志^[39]。其中, 肿瘤原始的干细胞样细胞在肝癌形成过程中细胞转录和逆转录中发挥重要作用, 而针对该类细胞的检测和治疗被认为是未来肝癌治疗的新靶点^[40]。

2 肝癌靶向治疗-方兴未艾

分子靶向治疗理论的提出和临床应用为肿瘤内科治疗带来了革命性的变化。随着肿瘤基础研究的不断进展, 越来越多的新型肿瘤靶向药物应用于临床, 有效地提高了肿瘤患者的生存时间, 不得不说近十年来是肿瘤靶向药物发展最快的十年, 也是开创肿瘤治疗新局面的十年。

2.1 肝癌的分子靶向药物 索拉非尼(Sorafenib), 是目前被美国FDA批准用于治疗原发性肝癌的分子靶向药物, 其主要针对晚期肝细胞癌^[41,42]。索拉非尼最初是应用于肾癌和非小细胞肺癌的分子靶向药物, 是首个针对Raf激酶的多靶点治疗药物, 其作用机制主要是通过阻断Raf/MEK/ERK通路所介导的信号转导, 同时抑制多种酪氨酸激酶, 包括与促进新生血管有关的血管内皮生长因子-2(vascular endothelial growth factor-2, VEGF-2)、VEGF-3与PDGFR- β 及肿瘤生长相关的c-Kit等蛋白达到最终的抗肿瘤作用^[43,44]。目前II期临床研究证明索拉非尼联合荷载多柔比星药物洗脱可降解微球介入栓塞是安全有效的, 值得注意的是索拉非尼在肝功能不全患者中的疗效及安全性并不明确。有研究发现, 铁螯合剂去铁胺(deferoxamine)可以通过抑制细胞周期和诱导凋亡等作用保护肝脏和抑制癌变, 而最近文献报道10例晚期肝癌患者中应用deferoxamine具有良好的疗效和安全性, 提示deferoxamine针对肝功能不佳的晚期肝癌患者有效, 并被认为是索拉非尼的有益补充^[45]。但是, 2013年Rimassa等^[46]报道在放射学治疗失败的进展性肝癌患者, 当索拉非尼剂量由400 mg, 2次/d, 提高到600 mg, 2次/d, II期临床试验发现患者的生存时间、生存质量都没有得到提高, 提示增加索拉非尼剂量对于进展期肝癌患者并不能取得临床获益。

■创新盘点

本文总结目前肝癌发生发展中比较成熟的分子机制, 旨在为后续肝癌分子靶向药物研发和应用提供新的依据和思路。

■应用要点

本文作为述评文章,主要是总结目前肝癌发生发展的分子机制以及分子靶向药物的临床应用情况,为临床肝癌治疗提供新思路。

Brivanib是另一种有希望应用于肝癌治疗的靶向药物,其是VEGF和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)受体家族的小分子酪氨酸激酶抑制剂,主要作用机制是抑制血管内皮生长因子受体及成纤维细胞生长因子受体^[47,48]。2011年Brivanib作为一线治疗方案应用于晚期肝癌的II期临床试验提示该药安全能耐受,研究中Brivanib所用剂量为800 mg, 1次/d, 肝癌患者6 mo的肿瘤无进展生存率为18.2%, 中位无疾病生存期为2.7 mo, 其中完全缓解(complete remission, CR) 1例, 部分缓解(partial response, PR) 3例, 病情稳定(stable disease, SD) 22例, 中位生存期为10 mo^[49]。最近, Finn等^[50]报道了Brivanib作为二线治疗在晚期肝癌的II期临床试验中的疗效评估, 患者同样给予800 mg, 1次/d, 46例患者中达到PR 2例(4.3%), SD 19例(41.3%), 疾病进展(progressive disease, PD) 19例(41.3%), 肿瘤反应率4.3%, 疾病控制率45.7%, 中位生存时间为9.79 mo, 并最终得出结论, Brivanib与索拉非尼一样, 对晚期肝癌患者安全有效。

2.2 肝癌分子靶向治疗的瓶颈 分子靶向治疗是目前肿瘤治疗中的热点方法, 在提高肿瘤患者生存时间上取得了长足的进步。但是, 在众多的分子靶向药物中却没有一个是完全针对肝癌设计的药物, 肝癌靶向药物的研发在这十年几乎是停滞的, 究其原因主要是: (1)肝癌发生机制复杂, 特异性的靶向药物开发困难。肝癌发生是多因素综合作用的结果, 目前对其机制了解不多, 同时肝细胞有其自身的特性, 增殖迅速, 一旦癌变以后, 肝癌细胞增生的机制或耐药机制不同, 不容易寻找特异性靶点; (2)目前大部分靶向治疗药物的有效率都较低, 疗效不甚理想; (3)靶向药物对肝癌治疗靶点选择性不高, 存在有“非靶向作用”的不良反应和高耐药性, 研发成本较高, 难以广泛应用; (4)肝癌患者对靶向药物治疗反应性可能有所不同, 存在人种和性别等差异, 而且目前还缺乏从分子水平检测肝癌细胞发生变化的有效手段, 因此对疾病监控不够。

3 机遇与挑战—握雾擎云

肝癌的治疗, 根本上取决于对肝癌发病机制的系统认识。手术、介入栓塞、化疗甚至于放疗治疗肝癌仍是目前肝癌治疗的主流。全面重新认识并对现有治疗方法进行规划和审视, 可能

会迎来肝癌治疗新的希望。随着众多生物高技术的发展和肝癌发生发展分子机制的阐明, 肝癌的治疗正面临着新的机遇和挑战, 分子靶向治疗会逐渐成为肝癌治疗的新宠, 也代表未来肝癌治疗的发展方向, 而基础研究的突破也会创造更为有效的肝癌靶向治疗方法, 配合个体化规范化的临床治疗, 最终使肝癌治疗获得新的成功。

4 参考文献

- 1 Matsuda T, Saika K. Trends in liver cancer mortality rates in Japan, USA, UK, France and Korea based on the WHO mortality database. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 360-361 [PMID: 22457364 DOI: 10.1093/jjco/hys048]
- 2 Sintra SN, Tomé L, Cipriano MA, Bento C, Furtado E. Long-term outcome of the first 150 liver transplant recipients: a single-center experience. *Transplant Proc* 2013; 45: 1119-1121 [PMID: 23622641 DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.02.101]
- 3 Zhao M, He HW, Sun HX, Ren KH, Shao RG. Dual knockdown of N-ras and epiregulin synergistically suppressed the growth of human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 387: 239-244 [PMID: 19563783 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.06.128]
- 4 Lian M, Liu Y, Yu SZ, Qian GS, Wan SG, Dixon KR. Hepatitis B virus x gene and cyanobacterial toxins promote aflatoxin B1-induced hepatocarcinogenesis in mice. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3065-3072 [PMID: 16718789]
- 5 Jeon YE, Lee SC, Paik SS, Lee KG, Jin SY, Kim HR, Yoo CW, Park HM, Han SY, Choi DH, Kim HK. Histology-directed matrix-assisted laser desorption/ionization analysis reveals tissue origin and p53 status of primary liver cancers. *Pathol Int* 2011; 61: 449-455 [PMID: 21790858 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02686.x]
- 6 McClendon AK, Dean JL, Ertel A, Fu Z, Rivadeneira DB, Reed CA, Bourgo RJ, Witkiewicz A, Addya S, Mayhew CN, Grimes HL, Fortina P, Knudsen ES. RB and p53 cooperate to prevent liver tumorigenesis in response to tissue damage. *Gastroenterology* 2011; 141: 1439-1450 [PMID: 21704587 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.046]
- 7 Huang Y, Tong S, Tai AW, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus core promoter mutations contribute to hepatocarcinogenesis by deregulating SKP2 and its target, p21. *Gastroenterology* 2011; 141: 1412-1421, 1412-1421 [PMID: 21704589]
- 8 Piguet AC, Dufour JF. PI(3)K/PTEN/AKT pathway. *J Hepatol* 2011; 54: 1317-1319 [PMID: 21168457 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.12.013]
- 9 Boiko AD, Porteous S, Razorenova OV, Krivokrysenko VI, Williams BR, Gudkov AV. A systematic search for downstream mediators of tumor suppressor function of p53 reveals a major role of BTG2 in suppression of Ras-induced transformation. *Genes Dev* 2006; 20: 236-252 [PMID: 16418486 DOI: 10.1101/gad.1372606]
- 10 Choi KS, Kim JY, Lim SK, Choi YW, Kim YH, Kang SY, Park TJ, Lim IK. TIS21(BTG2/PC3) accelerates the repair of DNA double strand breaks by enhancing Mre11 methylation and blocking damage signal

- transfer to the Chk2(T68)-p53(S20) pathway. *DNA Repair* (Amst) 2012; 11: 965-975 [PMID: 23089312 DOI: 10.1016/j.dnarep.2012.09.009]
- 11 Zhang Z, Chen C, Wang G, Yang Z, San J, Zheng J, Li Q, Luo X, Hu Q, Li Z, Wang D. Aberrant expression of the p53-inducible antiproliferative gene BTG2 in hepatocellular carcinoma is associated with overexpression of the cell cycle-related proteins. *Cell Biochem Biophys* 2011; 61: 83-91 [PMID: 21327578 DOI: 10.1007/s12013-011-9164-x]
 - 12 Thompson MD, Monga SP. WNT/beta-catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology* 2007; 45: 1298-1305 [PMID: 17464972 DOI: 10.1002/hep.21651]
 - 13 Langeswaran K, Gowthamkumar S, Vijayaprakash S, Revathy R, Balasubramanian MP. Influence of limonin on Wnt signalling molecule in HepG2 cell lines. *J Nat Sci Biol Med* 2013; 4: 126-133 [PMID: 23633848 DOI: 10.4103/0976-9668.107276]
 - 14 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011; 53: 1020-1022 [PMID: 21374666 DOI: 10.1002/hep.24199]
 - 15 Calvisi DF, Factor VM, Loi R, Thorgeirsson SS. Activation of beta-catenin during hepatocarcinogenesis in transgenic mouse models: relationship to phenotype and tumor grade. *Cancer Res* 2001; 61: 2085-2091 [PMID: 11280770]
 - 16 Cha MY, Kim CM, Park YM, Ryu WS. Hepatitis B virus X protein is essential for the activation of Wnt/beta-catenin signaling in hepatoma cells. *Hepatology* 2004; 39: 1683-1693 [PMID: 15185310 DOI: 10.1002/hep.20245]
 - 17 Srisuttee R, Koh SS, Kim SJ, Malilas W, Boonying W, Cho IR, Jhun BH, Ito M, Horio Y, Seto E, Oh S, Chung YH. Hepatitis B virus X (HBX) protein upregulates β -catenin in a human hepatic cell line by sequestering SIRT1 deacetylase. *Oncol Rep* 2012; 28: 276-282 [PMID: 22562294 DOI: 10.3892/or.2012.1798]
 - 18 Wang Y, Han C, Lu L, Magliato S, Wu T. Hedgehog signaling pathway regulates autophagy in human hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2013 Mar 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23504944 DOI: 10.1002/hep.26394]
 - 19 Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851 [PMID: 14520411 DOI: 10.1038/nature01972]
 - 20 Arzumanyan A, Sambandam V, Clayton MM, Choi SS, Xie G, Diehl AM, Yu DY, Feitelson MA. Hedgehog signaling blockade delays hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein. *Cancer Res* 2012; 72: 5912-5920 [PMID: 22986746 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2329]
 - 21 Sicklick JK, Li YX, Jayaraman A, Kannangai R, Qi Y, Vivekanandan P, Ludlow JW, Owzar K, Chen W, Torbenson MS, Diehl AM. Dysregulation of the Hedgehog pathway in human hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2006; 27: 748-757 [PMID: 16339184 DOI: 10.1093/carcin/bgi292]
 - 22 Kim Y, Yoon JW, Xiao X, Dean NM, Monia BP, Marcussan EG. Selective down-regulation of glioma-associated oncogene 2 inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2007; 67: 3583-3593 [PMID: 17440069 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3040]
 - 23 Strazzabosco M, Fabris L. Notch signaling in hepatocellular carcinoma: guilty in association! *Gastroenterology* 2012; 143: 1430-1434 [PMID: 23099244 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.025]
 - 24 Villanueva A, Alsinet C, Yanger K, Hoshida Y, Zong Y, Toffanin S, Rodriguez-Carunchio L, Solé M, Thung S, Stanger BZ, Llovet JM. Notch signaling is activated in human hepatocellular carcinoma and induces tumor formation in mice. *Gastroenterology* 2012; 143: 1660-1669. e7 [PMID: 22974708 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.09.002]
 - 25 Viatour P, Ehmer U, Saddic LA, Dorrell C, Andersen JB, Lin C, Zmoos AF, Mazur PK, Schaffer BE, Ostermeier A, Vogel H, Sylvester KG, Thorgeirsson SS, Grompe M, Sage J. Notch signaling inhibits hepatocellular carcinoma following inactivation of the RB pathway. *J Exp Med* 2011; 208: 1963-1976 [PMID: 21875955 DOI: 10.1084/jem.20110198]
 - 26 Wang J, Yuan L, Xiao H, Xiao C, Wang Y, Liu X. Momordin Ic induces HepG2 cell apoptosis through MAPK and PI3K/Akt-mediated mitochondrial pathways. *Apoptosis* 2013; 18: 751-765 [PMID: 23417763 DOI: 10.1007/s10495-013-0820-z]
 - 27 Nakagawa H, Hirata Y, Takeda K, Hayakawa Y, Sato T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakata W, Hikiba Y, Omata M, Yoshida H, Koike K, Ichijo H, Maeda S. Apoptosis signal-regulating kinase 1 inhibits hepatocarcinogenesis by controlling the tumor-suppressing function of stress-activated mitogen-activated protein kinase. *Hepatology* 2011; 54: 185-195 [PMID: 21488081 DOI: 10.1002/hep.24357]
 - 28 Guégan JP, Ezan F, Théret N, Langouët S, Baffet G. MAPK signaling in cisplatin-induced death: predominant role of ERK1 over ERK2 in human hepatocellular carcinoma cells. *Carcinogenesis* 2013; 34: 38-47 [PMID: 23042098 DOI: 10.1093/carcin/bgs317]
 - 29 Nakagawa H, Maeda S. Molecular mechanisms of liver injury and hepatocarcinogenesis: focusing on the role of stress-activated MAPK. *Patholog Res Int* 2012; 2012: 172894 [PMID: 22666632 DOI: 10.1155/2012/172894]
 - 30 Xiu P, Dong X, Dong X, Xu Z, Zhu H, Liu F, Wei Z, Zhai B, Kanwar JR, Jiang H, Li J, Sun X. Secretory clusterin contributes to oxaliplatin resistance by activating Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2013; 104: 375-382 [PMID: 23279642 DOI: 10.1111/cas.12088]
 - 31 Li Y, Dai C, Li J, Wang W, Song G. Bid-overexpression regulates proliferation and phosphorylation of Akt and MAPKs in response to etoposide-induced DNA damage in hepatocellular carcinoma cells. *Onco Targets Ther* 2012; 5: 279-286 [PMID: 23093908 DOI: 10.2147/OTT.S36087]
 - 32 Wattenberg LW. Inhibition of carcinogenesis by minor anutrient constituents of the diet. *Proc Nutr Soc* 1990; 49: 173-183 [PMID: 2236085 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.02.003]
 - 33 Liu H, Xu J, Zhou L, Yun X, Chen L, Wang S, Sun L, Wen Y, Gu J. Hepatitis B virus large surface antigen promotes liver carcinogenesis by activating the Src/PI3K/Akt pathway. *Cancer Res* 2011; 71: 7547-7557 [PMID: 21994334 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2260]
 - 34 Zhang J, Lan SJ, Liu QR, Liu JM, Chen XQ. Neuro-

同行评价

本文具有一定科学性、创新性、可读性, 对于肝癌的基础和临床研究具有一定的指导意义。

- globin, a novel intracellular hexa-coordinated globin, functions as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma via Raf/MAPK/Erk. *Mol Pharmacol* 2013; 83: 1109-1119 [PMID: 23478801 DOI: 10.1124/mol.112.083634]
- 35 Chiu CY, Kuo KK, Kuo TL, Lee KT, Cheng KH. The activation of MEK/ERK signaling pathway by bone morphogenetic protein 4 to increase hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration. *Mol Cancer Res* 2012; 10: 415-427 [PMID: 22241220 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0293]
 - 36 Liang RR, Zhang S, Qi JA, Wang ZD, Li J, Liu PJ, Huang C, Le XF, Yang J, Li ZF. Preferential inhibition of hepatocellular carcinoma by the flavonoid Baicalein through blocking MEK-ERK signaling. *Int J Oncol* 2012; 41: 969-978 [PMID: 22684543 DOI: 10.3892/ijo.2012.1510]
 - 37 Sieghart W, Pinter M, Dauser B, Rohr-Udilova N, Piguet AC, Prager G, Hayden H, Dienes HP, Dufour JF, Peck-Radosavljevic M. Erlotinib and sorafenib in an orthotopic rat model of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 592-599 [PMID: 22634341 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.034]
 - 38 Baumann U, Crosby HA, Ramani P, Kelly DA, Strain AJ. Expression of the stem cell factor receptor c-kit in normal and diseased pediatric liver: identification of a human hepatic progenitor cell? *Hepatology* 1999; 30: 112-117 [PMID: 10385646 DOI: 10.1002/hep.510300140]
 - 39 Song K, Wu J, Jiang C. Dysregulation of signaling pathways and putative biomarkers in liver cancer stem cells (Review). *Oncol Rep* 2013; 29: 3-12 [PMID: 23076400 DOI: 10.3892/or.2012.2082]
 - 40 Rountree CB, Mishra L, Willenbring H. Stem cells in liver diseases and cancer: recent advances on the path to new therapies. *Hepatology* 2012; 55: 298-306 [PMID: 22030746 DOI: 10.1002/hep.24762]
 - 41 Takeda H, Nishikawa H, Iguchi E, Ohara Y, Sakamoto A, Saito S, Nishijima N, Nasu A, Komekado H, Kita R, Kimura T, Osaki Y. Effect of treatment with branched-chain amino acids during sorafenib therapy for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2013 Apr 2. [Epub ahead of print] [PMID: 23607614 DOI: 10.1111/hepr.12125]
 - 42 Piscaglia F, Salvatore V, Venerandi L. Field practice studies on sorafenib: lessons in systemic treatment of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 367-368 [PMID: 23562444 DOI: 10.1016/j.dld.2013.02.018]
 - 43 Coriat R, Nicco C, Chéreau C, Mir O, Alexandre J, Ropert S, Weill B, Chaussade S, Goldwasser F, Batteux F. Sorafenib-induced hepatocellular carcinoma cell death depends on reactive oxygen species production in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2284-2293 [PMID: 22902857 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0093]
 - 44 Zhang HL, Zhu Y, Qin XJ, Wang CF, Yao XD, Zhang SL, Dai B, Zhu YP, Shi GH, Ye DW. c-KIT: potential predictive factor for the efficacy of sorafenib in metastatic renal cell carcinoma with sarcomatoid feature. *Clin Genitourin Cancer* 2013; 11: 134-140 [PMID: 23058498 DOI: 10.1016/j.clgc.2012.08.007]
 - 45 Yamasaki T, Terai S, Sakaida I. Deferoxamine for advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 576-578 [PMID: 21830988 DOI: 10.1056/NEJMc1105726]
 - 46 Rimassa L, Pressiani T, Boni C, Carnaghi C, Rota Caremoli E, Fagioli S, Foa P, Salvagni S, Cortesi E, Chiara Tronconi M, Personeni N, Bozzarelli S, Chiara Banzi M, Fanelli S, Romano Lutman F, Giordano L, Santoro A. A phase II randomized dose escalation trial of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2013; 18: 379-380 [PMID: 23580239 DOI: 10.1634/theoncologist.2012-0221]
 - 47 Shen YC, Hsu C, Cheng AL. Molecular targeted therapy for advanced hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *J Gastroenterol* 2010; 45: 794-807 [PMID: 20567987 DOI: 10.1007/s00535-010-0270-0]
 - 48 Tian T, Nan KJ, Wang SH, Liang X, Lu CX, Guo H, Wang WJ, Ruan ZP. PTEN regulates angiogenesis and VEGF expression through phosphatase-dependent and -independent mechanisms in HepG2 cells. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1211-1219 [PMID: 20430845 DOI: 10.1093/carcin/bgq085]
 - 49 Park JW, Finn RS, Kim JS, Karwal M, Li RK, Ismail F, Thomas M, Harris R, Baudalet C, Walters I, Raoul JL. Phase II, open-label study of brivanib as first-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1973-1983 [PMID: 21349999 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2011]
 - 50 Finn RS, Kang YK, Mulcahy M, Polite BN, Lim HY, Walters I, Baudalet C, Manekas D, Park JW. Phase II, open-label study of brivanib as second-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2090-2098 [PMID: 22238246 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1991]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎患者的回顾性分析

徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉

徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉, 上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心 上海市 201508

徐庆年, 副主任医师, 主要从事急慢性肝胆疾病的基础与临床的研究。

国家十二五科技重大专项基金资助项目, No. 2012ZX10004301004

作者贡献分布: 徐庆年与杨宗国对此文所做贡献均等; 此课题由徐庆年与陈晓蓉设计; 研究过程由徐庆年、陈晓蓉与杨宗国操作完成; 数据提取与分析由杨宗国与陆云飞完成; 本论文写作由徐庆年与杨宗国完成。

通讯作者: 陈晓蓉, 主任医师, 201508, 上海市金山区漕廊公路2901号, 上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心。

xiaorong3chen@163.com

电话: 021-37990333

收稿日期: 2013-04-26 修回日期: 2013-05-19

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

A retrospective study of peginterferon plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in patients who had undergone previous antiviral therapy

Qing-Nian Xu, Zong-Guo Yang, Yun-Fei Lu, Xiao-Rong Chen

Qing-Nian Xu, Zong-Guo Yang, Yun-Fei Lu, Xiao-Rong Chen, Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai 201508, China

Supported by: the National Science and Technology Major Project during the "Twelfth Five-year Plan" Period, No. 2012ZX10004301004

Correspondence to: Xiao-Rong Chen, Chief Physician, Shanghai Public Health Clinical Center Fudan University, 2901 Caolang Road, Jinshan District, Shanghai 201508, China. xiaorong3chen@163.com

Received: 2013-04-26 Revised: 2013-05-19

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To evaluate the virologic responses and safety of peginterferon plus ribavirin therapy for treatment of chronic hepatitis C (CHC) in patients who had undergone previous antiviral therapy.

METHODS: All patients were divided into two groups based on the type of previously used interferon. Virologic responses, including rapid vi-

rologic response (RVR), early virologic response (EVR), end-of-treatment virologic response (ETR) and sustained virologic response (SVR), relapse rate and discontinuation rate were assessed after retreatment with peginterferon plus ribavirin.

RESULTS: For CHC patients previously treated with peginterferon plus ribavirin, retreatment by the same regimen might be associated with lower RVR, EVR, ETR and SVR rates (21.1% vs 40.5%, 26.3% vs 43.2%, 47.4% vs 56.8%, 31.6% vs 46.0%) and a higher relapse rate (33.3% vs 19.0%), but no significance was found compared with those treated with standard interferon (all $P > 0.05$). Achieving EVR might be a positive factor for achieving SVR in patients previously treated with interferons (IFNs) (OR = 20.43, $P = 0.004$).

CONCLUSION: Peginterferon plus ribavirin therapy is effective for CHC patients previously treated with IFNs; however, retreatment with the same regimen for CHC patients previously treated with peginterferon plus ribavirin is not recommended. Achieving EVR might be a positive factor for achieving SVR in patients previously treated with IFNs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Peginterferon; Ribavirin; Retreatment; Chronic hepatitis C; Retrospective study

Xu QN, Yang ZG, Lu YF, Chen XR. A retrospective study of peginterferon plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in patients who had undergone previous antiviral therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1797-1802 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1797.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1797>

摘要

目的: 评价聚乙二醇干扰素(peginterferon, pegIFN)联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者的病毒学应答及安全性。

■背景资料

50%以上的丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染者对乙二糖干扰素(interferon, IFN)联合利巴韦林治疗应答不佳。经治慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者因其HCV病毒具有变异率高、病毒学应答低、复发率高、病情反复发作等特点,成为难治性CHC之一,该部分患者的抗病毒治疗一直困扰着临床工作者。

■同行评议者

丁义涛, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院

■研究前沿

聚乙二醇干扰素(peginterferon, pegIFN)联合利巴韦林常规疗程治疗经治CHC仍可使部分患者获得持续病毒学应答,对于经治CHC仍可采用pegIFN联合利巴韦林的抗病毒治疗方案。但可以预见的是,在不久的将来,以pegIFN、利巴韦林联合直接抗病毒药物(directly acting antiviral agents)的三联抗病毒方案将成为治疗失败或治疗后复发CHC患者的标准治疗选择。

方法: 根据CHC患者经治方案的不同分组,分析再次以pegIFN联合利巴韦林治疗后的病毒学应答:快速病毒学应答(rapid virologic response, RVR)、早期病毒学应答(early virologic response, EVR)、治疗结束时病毒学应答(end-of-treatment virologic response, ETR)、持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR)、复发率及中止治疗比率,并分析影响临床结局的影响因素。

结果: (1)既往采用pegIFN联合利巴韦林治疗的经治患者,再次以该方案治疗后获得RVR、EVR、ETR、SVR的比率相对偏低(分别为21.1% vs 40.5%, 26.3% vs 43.2%, 47.4% vs 56.8%, 31.6% vs 46.0%),与IFN组比较无统计学差异($P>0.05$); (2)既往以pegIFN联合利巴韦林治疗的经治患者,再次以该方案治疗后的复发率相对较高,但与IFN组比较无统计学差异(33.3% vs 19.0%, $P>0.05$); (3)经治CHC患者获得ETR可能为其获得SVR的有利因素($OR = 20.43, P = 0.004$)。

结论: 对经治CHC患者再次采用pegIFN联合利巴韦林抗病毒仍可取得相对有效的病毒学应答,既往以pegIFN联合利巴韦林抗病毒的经治CHC患者,不支持继续以相同方案抗病毒,获得ETR可能为该部分患者获得SVR的有利因素。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 聚乙二醇干扰素; 利巴韦林; 经治; 慢性丙型肝炎; 回顾性分析

核心提示: 经治慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者是难治性CHC之一。对于经治CHC患者的再治疗是目前值得关注的研究热点。本论文回顾性分析该人群再次以聚乙二醇干扰素(peginterferon)联合利巴韦林治疗后的病毒学应答及复发率,为临床治疗提供循证医学依据。

徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎患者的回顾性分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1797-1802 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1797.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1797>

0 引言

全球约1.7亿人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV), 55%-80%感染者可发展为慢性化, 慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)是肝硬化、肝癌的主要原因之一^[1,2]。干扰素 α (interferon α ,

IFN- α , 包括普通干扰素等)是抗HCV的有效药物。虽然蛋白酶抑制剂已被推荐应用于基因1型或经治CHC等难治性患者的抗病毒治疗^[2,3], 过去很长时期内干扰素联合利巴韦林的治疗方案为许多国家抗HCV的一线方案。但受HCV基因高度变异性以及病毒感染肝脏外其他组织细胞^[4]等因素的影响, CHC病程发展过程中反复发作, 经聚乙二醇干扰素(peginterferon, pegIFN)联合利巴韦林治疗后复发率为28.6%-52.9%^[5]。另外, 干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗容易产生一系列不良反应, 如流感样症状、骨髓抑制、甲状腺疾病等, 亦可导致CHC患者中止抗病毒治疗^[1-3]。对治疗后复发或因故中止治疗的CHC患者进行再治疗是CHC抗病毒的关键问题之一。本研究回顾性分析老年CHC患者接受pegIFN联合利巴韦林抗病毒的临床病毒学应答、复发率, 并对该部分患者接受抗病毒的安全性进行评价, 进一步分析各影响因素与上述临床结局的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 56例经治CHC患者均为上海市公共卫生临床中心住院的患者, 既往采取含干扰素的抗病毒方案(包括单用普通干扰素、pegIFN, 普通干扰素联合利巴韦林及pegIFN联合利巴韦林)治疗中止或失败者, 既往抗病毒治疗时间 ≥ 4 wk, 诊断符合中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》^[6]及《丙型肝炎防治指南》中CHC诊断标准^[7]。排除失代偿期肝硬化及其他慢性肝病(如自身免疫性肝病、代谢性肝病等), 排除合并其他嗜肝病毒感染及患有重要脏器疾病者(严重心、肺、肾疾病, 甲状腺疾病, 精神病等), 同时排除酗酒、吸毒及过敏体质者。

1.2 方法

1.2.1 检测: HCV RNA采用德国Qiagen公司RNA抽取试剂盒, 实时荧光定量RT-PCR方法检测, 以HCV RNA $<1.0 \times 10^3$ IU/mL为小于最低检测限(阴性); 血常规、肝肾功能、HCV基因分型(1a、1b、1c、2a、2i、3a、3b、5a、6a、6b, 基因型未检出等)均由上海市公共卫生临床中心检验科统一检测。

1.2.2 治疗方案: 所有患者均接受peg-IFN α -2a 135 μ g或180 μ g(派罗欣, 瑞士罗氏制药有限公司, 国药准字J20070055), 1次/wk, 皮下注射; 利巴韦林800-1200 mg/d, 分2-3次口服。派罗欣减量方案: 中性粒细胞计数 $<0.75 \times 10^9$ /L或血小板计

表 1 两组患者基线水平比较

基线因素	pegIFN组	IFN组	$\chi^2/Z/t$ 值	P值
<i>n</i>	19	37		
性别(男/女)	10/9	24/13	0.788	0.375
年龄(岁)	52.0±11.55	52.04±10.13	0.83	0.41
HCV RNA(log10 IU/mL)	6.34(3.01–7.35)	6.43(3.27–7.41)	0.018	0.985
基因型(1b/非1b)	6/13	19/18	1.986	0.159
中性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	1.97±0.84	2.32±0.93	1.026	0.312
血小板计数($\times 10^9/L$)	100(66–283)	93(35–396)	0.566	0.571
血红蛋白(g/L)	130.4±20.5	136.3±18.3	0.807	0.426
ALT(U/L)	55(29–78)	61(18–160)	1.095	0.274
AST(U/L)	43(17–96)	50(19–128)	0.195	0.845
输血感染/吸毒/不明原因	15/0/4	24/2/11	–	0.364

pegIFN: 聚乙二醇干扰素; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; IFN: 干扰素。

数 $<50 \times 10^9/L$ 时, 派罗欣减量(180-135-90 μg 依次递减); 中性粒细胞计数 $<0.5 \times 10^9/L$ 或血小板计数 $<25 \times 10^9/L$ 时, 暂停派罗欣治疗。利巴韦林减量方案: 85 g/L \leq 血红蛋白 <100 g/L时, 利巴韦林减量至600 mg/d, 血红蛋白下降至85 g/L以下, 暂停利巴韦林治疗。白细胞(中性粒细胞)和/或血小板减少者口服利可君片(江苏吉贝尔药业有限公司, 国药准字H32025444), 40 mg/次, 3次/d。根据HCV基因型, 疗程24(HCV基因非1型)或48 wk(HCV基因1型), 随访时间24 wk以上。

1.2.3 病毒学应答: 快速病毒学应答(rapid virologic response, RVR): 治疗4 wk时HCV RNA低于检测下限; 早期病毒学应答(early virologic response, EVR): 治疗12 wk时HCV RNA低于检测下限或定量检测降低2 log以上; 治疗结束时病毒学应答(end-of-treatment virologic response, ETR): 治疗结束时HCV RNA低于检测下限或定量检测降低2 log以上; 持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR): 治疗结束至少随访24 wk, HCV RNA低于检测下限。复发是指治疗结束时HCV RNA低于检测下限(阴性), 停药后HCV RNA又变为阳性。

统计学处理 采用统计软件SPSS18.0进行统计分析。所有统计检验均采用双侧检验, 数值变量正态分布资料采用mean \pm SD进行统计描述, 统计分析采用 t 检验; 非正态分布资料采用中位数(最小值-最大值)进行统计描述, 统计分析采用秩和检验; 分类变量采用频数(构成比)进行统计描述, 统计分析采用 χ^2 检验。影响因素回归分析采用单因素及多因素Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基线情况 既往采用pegIFN抗病毒者19例, 采用普通干扰素IFN抗病毒者37例, 两组基线水平一致性较好($P>0.05$)(表1)。

2.2 病毒学应答、复发率及中止治疗率比较 既往采用IFN抗病毒的经治CHC患者再次采用pegIFN联合利巴韦林治疗后, 其病毒学应答比率普遍高于pegIFN组, 复发率相对较低(19.0% vs 33.3%), 但均无统计学差异($P>0.05$)。IFN组8例中止治疗, 其中2例因精神抑郁停止治疗, 5例未获得EVR停止治疗, 1例抗病毒期间死亡。pegIFN组3例中止治疗, 其中1例未获得EVR停止治疗, 1例发现肝癌停止治疗, 1例抗病毒期间死亡(表2)。

2.3 经治CHC患者获得SVR的影响因素分析 二分类Logistic单因素回归分析显示, EVR、ETR可能为影响经治CHC患者获得SVR的潜在影响因素($P<0.10$); Logistic多因素回归采用enter法, 分析显示, 获得ETR的经治CHC患者获得SVR的比率明显高于未获得ETR者($P<0.01$)(表3)。

3 讨论

HCV感染由于进展隐匿、慢性率高及预后不良而倍受关注。以干扰素为基础的治疗在临床上一度居于主导地位, 但疗程长、有效率低、不良反应大等问题仍未得到根本解决, 进而加剧了HCV治疗中止、治疗后复发的可能^[8,9]。因病毒学应答不佳或既往治疗有效却难以耐受干扰素和/或利巴韦林不良反应而中止治疗的患者, 其再次治疗方案及疗程等缺乏有效的循证医学证据。而该部分患者与基因1型患者、老年

■ 相关报道

对于既往以IFN联合利巴韦林治疗失败的CHC患者, pegIFN联合利巴韦林再治疗可取得一定比例的病毒学应答。Goncales等研究结果表明22.2%的基因1型经治CHC患者与40%的基因3型经治CHC患者可取得持续病毒学应答。Huang等认为pegIFN联合利巴韦林对于基因2型的治疗后复发的CHC患者疗效较好, 尤其是再次治疗时获得早期病毒学应答(early virologic response)的患者。

■创新盘点

本文回顾性分析了经治CHC患者再次以pegIFN联合利巴韦林抗病毒后的病毒学应答、复发率, 及该人群持续病毒学应答(sustained virologic response)的影响因素, 为临床治疗提供依据。

表 2 两组患者病毒学应答及复发率比较 $n(\%)$

分组	<i>n</i>	RVR	EVR	ETR	SVR	复发率	中止治疗率
pegIFN组	19	4(21.1)	5(26.3)	9(47.4)	6(31.6)	3(33.3)	3(15.8)
IFN组	37	15(40.5)	16(43.2)	21(56.8)	17(46.0)	4(19.0)	8(21.6)
χ^2		—	1.197	0.445	1.071	—	—
<i>P</i> 值		0.185	0.274	0.505	0.301	0.397	0.732

RVR: 快速病毒学应答; EVR: 早期病毒学应答; ETR: 治疗结束时病毒学应答; SVR: 持续病毒学应答; pegIFN: 聚乙二醇干扰素; IFN: 干扰素。

表 3 经治慢性丙型肝炎患者获得SVR的影响因素

影响因素	SVR	单因素		多因素	
		OR(95%CI)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)	<i>P</i> 值
性别(男/女)	13/10	0.4(0.11–1.47)	0.167	—	
合并症(有/无)	4/19	0.31(0.07–1.4)	0.128	—	
RVR(是/否)	11/12	2.46(0.56–10.68)	0.231	—	
EVR(是/否)	16/7	6.23(1.52–25.49)	0.011	2.42(0.39–14.89)	0.341
ETR(是/否)	22/1	20.0(3.48–114.92)	0.001	20.43(2.58–161.62)	0.004
基因型(1b/非1b)	8/15	0.35(0.09–1.33)	0.122	0.30(0.05–1.88)	0.296
经治方案(pegIFN/IFN)	6/17	0.5(0.13–1.91)	0.310	—	
年龄(岁)	—	0.99(0.93–1.06)	0.734	—	
中性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	—	1.54(0.66–3.59)	0.313	—	
血小板计数($\times 10^9/L$)	—	1.01(1.0–1.02)	0.076	1.03(0.99–1.04)	0.517
血红蛋白(g/L)	—	0.99(0.95–1.04)	0.649	—	
ALT(U/L)	—	1.0(0.99–1.02)	0.604	—	
AST(U/L)	—	1.0(0.96–1.04)	0.914	—	
HCV RNA(log10 IU/mL)	—	0.63(0.29–1.35)	0.232	0.66(0.26–1.71)	0.394

SVR: 持续病毒学应答; RVR: 快速病毒学应答; EVR: 早期病毒学应答; ETR: 治疗结束时病毒学应答; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; pegIFN: 聚乙二醇干扰素; IFN: 干扰素。

患者、合并肾功能不全等特殊人群CHC患者被列为难治性CHC。对于经治CHC的再治疗是目前值得关注的研究热点之一^[10-12]。初次治疗中止的患者多由于不能耐受干扰素或利巴韦林的不良反应, 而导致CHC初次治疗失败或治疗后复发的影响因素包括HCV基因型、病毒载量、肝脏纤维化程度、年龄、IFN剂型、剂量及对治疗的依从性等^[13,14]。HCV病毒的高度变异性及耐药性是CHC初次治疗失败或治疗后复发的主要原因。HCV是一种高度变异的病毒, 这种变异使得HCV在感染者体内形成复杂多样的HCV准种群, 有可能对机体的抗病毒免疫应答产生影响^[15]。HCV复制子在应用一定水平的IFN- α 进行加压培养条件下, 在NS4B、NS5A的基因序列中都发现了一致性的基因替换^[16]。这表明这些位点的基因替换与HCV对干扰素的抵抗性有关。

我们的前期研究显示^[17], 初次治疗的CHC患者较经治患者可取得较高的病毒学应答比率, 且经治患者再次以pegIFN联合利巴韦林抗病毒后复发率较高。李明慧等^[5]总结经治患者再治疗产生较低病毒学应答、高复发率的原因存在以下几种可能: (1)由于普通IFN抗原性较强, 治疗后容易产生IFN抗体, 经pegIFN再治疗容易导致pegIFN有效率降低而治疗失败^[18,19]; (2)基于HCV基因型的高度变异性, 既往IFN治疗可能导致pegIFN再治疗时的HCV准种与初次治疗时存在差异, pegIFN治疗时HCV准种中可能存在IFN变异株, 导致pegIFN再治疗的低病毒学应答; (3)IFN的选择: 经过IFN治疗选择后的CHC复发患者, 在IFN免疫压力作用下准种的数目和模式发生了变化, 对IFN敏感的病毒株被清除, 不敏感的病毒株数量上未达到可检出的水平, 在

以后成为优势株, 使pegIFN再治疗失败; (4)peg-IFN再治疗疗程短: 对于CHC复发患者再治疗的疗程过短, 也可能是导致其不能获得较高SVR的原因之一^[20]。一般而言, 首次治疗部分应答者再次治疗才可以获得SVR, 无应答者再次治疗获得SVR的几率相对较小。首次治疗后复发患者常可获得再次治疗的病毒学应答^[21]。

Herrine等^[22]研究表明, 既往采用普通IFN联合利巴韦林抗病毒治疗后复发的CHC患者, 再次使用pegIFN联合利巴韦林治疗可取得较高的SVR(38%-45%)。对于既往经pegIFN联合利巴韦林抗病毒未达到SVR的CHC患者不推荐再次以pegIFN联合利巴韦林治疗^[1]。本研究结果进一步表明, 经治患者再次治疗取得病毒学应答的比率较低, 复发率较高。然而既往采用普通IFN或pegIFN抗病毒方案对再次治疗后病毒学应答、复发率及中止治疗比率均未显示出统计学差异。但既往采用普通IFN治疗失败, 再次以pegIFN联合利巴韦林治疗后的病毒学应答比率普遍较pegIFN组高, 复发率偏低。由于本研究纳入病例数较少, 既往采用普通IFN治疗与pegIFN相比, 再次以pegIFN抗病毒可能取得较高的SVR。我们推测, 扩大样本后该部分差异可能存在统计学意义。因此, 对于既往采用pegIFN联合利巴韦林抗病毒治疗失败的CHC患者, 我们仍不支持再次采用相同方案治疗。为明确既往治疗方案对再次抗病毒治疗的影响, 需要更多的前瞻性大样本的临床研究证实。

大量研究表明, EVR是SVR的最准确预测因子, 尤其是完全性EVR的预测价值更大。大约97%-100%的基因1型初治未获得EVR的CHC患者不能达到SVR^[23-25]。我们对经治CHC患者取得SVR的影响因素进一步分析, EVR对SVR的预测并未显示出统计学差异, 而获得ETR可能成为该部分患者获得SVR的有利因素。既往研究结果认为^[26], 获得ETR并非获得SVR的有效预测因素, 但获得ETR对CHC患者而言十分必要。在一定程度上我们的研究结果与既往研究结果相左。基于以上研究结果, 我们认为, 良好的依从性及对pegIFN与利巴韦林的不良反应的有效预防与控制, 尽可能足疗程抗病毒获得ETR是该部分获得更好临床疗效的前提。

随着蛋白酶抑制剂的问世, 大量临床研究结果表明, 蛋白酶抑制剂对基因1型或治疗后复发的CHC患者有较好的临床疗效^[2,3]。HCV基因型的高度特异性和高耐药突变率限制了包括蛋

白酶抑制剂在内的各类药物的单独使用^[27]。虽然对于经治CHC仍可采用pegIFN联合利巴韦林的抗病毒治疗方案, 但可以预见的是, 在不久的将来, 以pegIFN、利巴韦林联合直接抗病毒药物(directly acting antiviral agents, DAAs)的三联抗病毒方案将成为治疗失败或治疗后复发CHC患者的标准治疗选择^[28-30]。

4 参考文献

- 1 Omata M, Kanda T, Yu ML, Yokosuka O, Lim SG, Jafri W, Tateishi R, Hamid SS, Chuang WL, Chutaputti A, Wei L, Sollano J, Sarin SK, Kao JH, McCaughan GW. APASL consensus statements and management algorithms for hepatitis C virus infection. *Hepatol Int* 2012; 6: 409-435 [DOI: 10.1007/s12072-012-9342-y]
- 2 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011; 55: 245-264 [PMID: 21371579 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.023]
- 3 Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54: 1433-1444 [PMID: 21898493 DOI: 10.1002/hep.24641]
- 4 Meier V, Mihm S, Braun Wietzke P, Ramadori G. HCV-RNA positivity in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic HCV infection: does it really mean viral replication? *World J Gastroenterol* 2001; 7: 228-234 [PMID: 11819765]
- 5 李明慧, 谢尧, 赵辉, 欧尉妮, 徐道振, 陆志檬, 骆抗先, 贾继东, 王宇明, 赵桂珍, 张树林, 张大志. CHC干扰素治疗后复发患者的干扰素再治疗. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 3-6
- 6 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会联合修订. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 7 中华医学会肝病学会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 194-198
- 8 Cheng WS, Roberts SK, McCaughan G, Sievert W, Weltman M, Crawford D, Rawlinson W, Marks PS, Thommes J, Rizkalla B, Yoshihara M, Dore GJ. Low virological response and high relapse rates in hepatitis C genotype 1 patients with advanced fibrosis despite adequate therapeutic dosing. *J Hepatol* 2010; 53: 616-623 [PMID: 20619475 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.024]
- 9 George SL, Bacon BR, Brunt EM, Mihindukulasuriya KL, Hoffmann J, Di Bisceglie AM. Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: a 5-year follow-up of 150 patients. *Hepatology* 2009; 49: 729-738 [PMID: 19072828 DOI: 10.1002/hep.22694]
- 10 Sjogren MH. The importance of successful re-treatment in refractory HCV patients. *Clinical Roundtable Monograph* 2010; 6(suppl 6): 4-7
- 11 Yee HS, Currie SL, Tortorice K, Cozen M, Shen H, Chapman S, Cunningham F, Monto A. Retreatment of hepatitis C with consensus interferon and ribavirin after nonresponse or relapse to pegylated interferon and ribavirin: a national VA clinical prac-

■应用要点

对经治CHC患者再次采用pegIFN联合利巴韦林抗病毒仍可取得相对有效的病毒学应答; 既往以pegIFN联合利巴韦林抗病毒的经治CHC患者, 不支持继续以相同方案抗病毒治疗。

■同行评价

本文回顾性分析 pegIFN 联合利巴韦林治疗经治 CHC 患者的疗效, 本文结论对临床治疗有重要的指导价值, 有一定的临床意义。

- 12 Shin SR, Sinn DH, Gwak GY, Choi MS, Lee JH, Koh KC, Yoo BC, Paik SW. Risk factors for relapse in chronic hepatitis C patients who have achieved end of treatment response. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 957-963 [PMID: 20546450 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06176.x]
- 13 Kainuma M, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamura M, Kotoh K, Azuma K, Shimono J, Shimoda S, Hayashi J. Pegylated interferon α -2b plus ribavirin for older patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4400-4409 [PMID: 20845506]
- 14 Yang Z, Zhuang L, Yang L, Chen X. Efficacy and Tolerability of Peginterferon α -2a and Peginterferon α -2b, Both plus Ribavirin, for Chronic Hepatitis C: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 739029 [PMID: 23662098 DOI: 10.1155/2013/739029]
- 15 杨东亮. 丙型肝炎-进展与挑战. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 1-2
- 16 成军. 丙型肝炎病毒基因变异及其临床意义. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 54-55
- 17 杨宗国, 叶佩燕, 陈晓蓉, 刘成. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎初治与再治患者的回顾性研究. 中华全科医师杂志 2011; 11: 836-839
- 18 Halfon P, Pérusat S, Bourlière M, Bronowicki JP, Trimoulet P, Benhamou Y, Leroy V, Marcellin P, Foucher J, Penaranda G, Chêne G, Couzigou P. Neutralizing antibodies to interferon- α and circulating interferon in patients with chronic hepatitis C non-responding to pegylated interferon plus ribavirin re-treated by pegylated interferon- α -2a and ribavirin (ANRS HC16 GAMMATRI substudy). *J Med Virol* 2010; 82: 2027-2031 [PMID: 20981789 DOI: 10.1002/jmv.21909]
- 19 Santantonio T, Milella M, Antonelli G, Scagnolari C. Neutralizing antibodies to interferon alpha in a chronic hepatitis C patient non-responder to pegylated interferon. *J Hepatol* 2006; 45: 759-761 [PMID: 16979777 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.08.007]
- 20 Saracco G, Olivero A, Ciancio A, Carenzi S, Smedile A, Cariti G, Andreoni M, Orsi PG, Biglino A, Tabone M, Roffi L, Croce G, Manca A, Tappero G, Ciccone G, Rizzetto M. A randomized 4-arm multicenter study of interferon alfa-2b plus ribavirin in the treatment of patients with chronic hepatitis C relapsing after interferon monotherapy. *Hepatology* 2002; 36: 959-966 [PMID: 12297844]
- 21 Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 2005; 436: 967-972 [PMID: 16107837 DOI: 10.1038/nature04082]
- 22 Herrine SK, Brown RS, Bernstein DE, Ondovik MS, Lentz E, Te H. Peginterferon alpha-2a combination therapies in chronic hepatitis C patients who relapsed after or had a viral breakthrough on therapy with standard interferon alpha-2b plus ribavirin: a pilot study of efficacy and safety. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 719-726 [PMID: 15844708 DOI: 10.1007/s10620-005-2563-3]
- 23 Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL, Häussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-982 [PMID: 12324553 DOI: 10.1056/NEJMoa020047]
- 24 Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 645-652 [PMID: 12939591 DOI: 10.1053/jhep.2003.50364]
- 25 Carlsson T, Reichard O, Norkrans G, Bläckberg J, Sangfelt P, Wallmark E, Weiland O. Hepatitis C virus RNA kinetics during the initial 12 weeks treatment with pegylated interferon-alpha 2a and ribavirin according to virological response. *J Viral Hepat* 2005; 12: 473-480 [PMID: 16108761 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00621.x]
- 26 Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009; 49: 1335-1374 [PMID: 19330875 DOI: 10.1002/hep.22759]
- 27 康富标, 赵敏. 丙型肝炎抗病毒治疗进展. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 933-935
- 28 Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, Jacobson IM, Reddy KR, Goodman ZD, Boparai N, DiNubile MJ, Sniukiene V, Brass CA, Albrecht JK, Bronowicki JP. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 1195-1206 [PMID: 21449783 DOI: 10.1056/NEJMoa1010494]
- 29 Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, Marcellin P, Muir AJ, Ferenci P, Flisiak R, George J, Rizzetto M, Shouval D, Sola R, Terg RA, Yoshida EM, Adda N, Bengtsson L, Sankoh AJ, Kieffer TL, George S, Kauffman RS, Zeuzem S. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2405-2416 [PMID: 21696307 DOI: 10.1056/NEJMoa1012912]
- 30 Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, Focaccia R, Younossi Z, Foster GR, Horgan A, Ferenci P, Nevens F, Müllhaupt B, Pockros P, Terg R, Shouval D, van Hoek B, Weiland O, Van Heeswijk R, De Meyer S, Luo D, Boogaerts G, Polo R, Picchio G, Beumont M. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2417-2428 [PMID: 21696308 DOI: 10.1056/NEJMoa1013086]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



超声检查对于胰腺实性假乳头状瘤诊断的价值

蔡迪明, 李永忠, 马步云, 凌文武, 姜勇, 张凌燕, 钟晓绯, 张静漪, 宋彬

蔡迪明, 李永忠, 马步云, 凌文武, 张凌燕, 钟晓绯, 张静漪, 宋彬, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041
姜勇, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041
宋彬, 四川大学华西医院放射科 四川省成都市 610041
蔡迪明, 主要从事腹部、血管及小器官的超声检查与诊断。
作者贡献分布: 蔡迪明与宋彬对此文所作贡献均等; 此课题由蔡迪明、宋彬及李永忠设计; 研究过程由蔡迪明与马步云操作完成; 统计数据由凌文武完成; 数据分析由张凌燕、钟晓绯及张静漪完成; 病理图片及病理分析由姜勇完成, 本论文写作由蔡迪明、宋彬及李永忠完成。
通讯作者: 宋彬, 教授, 610041, 成都市国学巷37号, 四川大学华西医院放射科, cjr.songbin@vip.163.com
电话: 028-85422304 传真: 028-85423196
收稿日期: 2013-04-26 修回日期: 2013-05-19
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Diagnostic value of ultrasound in detection of solid pseudopapillary tumor of the pancreas

Di-Ming Cai, Yong-Zhong Li, Bu-Yun Ma, Wen-Wu Ling, Yong Jiang, Ling-Yan Zhang, Xiao-Fei Zhong, Jing-Yi Zhang, Bin Song

Di-Ming Cai, Yong-Zhong Li, Bu-Yun Ma, Wen-Wu Ling, Ling-Yan Zhang, Xiao-Fei Zhong, Jing-Yi Zhang, Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Yong Jiang, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Bin Song, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Bin Song, Professor, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, 37 Guoxue Xiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. cjr.songbin@vip.163.com
Received: 2013-04-26 Revised: 2013-05-19
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of ultrasound in the detection of solid pseudopapillary tumor of the pancreas (SPTs).

METHODS: The data of ultrasound and contrast-enhanced ultrasound for 30 patients with pathologically confirmed SPTs were retrospectively analyzed. The rates of detection of SPTs by the two methods were compared using the χ^2 test or Fisher's exact test.

RESULTS: Of 30 patients, 1 was male and the others were female. Their mean age was 30.5 years, ranging from 13 to 58 years. Fourteen tumors were located in the head of the pancreas, 4 in the body of the pancreas and 12 in the tail of the pancreas. The size of tumors ranged from 1.5 cm \times 1.1 cm \times 1.8 cm to 21 cm \times 11 cm \times 15 cm. Of 26 cases examined by ultrasound, 17 were correctly diagnosed, 1 had missed diagnosis, and 8 were diagnosed with other tumors of the pancreas. Of 4 cases examined by contrast-enhanced ultrasonography, 3 were correctly diagnosed and 1 was diagnosed with other tumor of the pancreas. There was no significant difference in the diagnostic accuracy between the two methods (64% vs 75%, $P = 0.593$).

CONCLUSION: SPTs exhibit some special ultrasound features, which may be helpful to diagnose this type of tumor.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreases; Solid pseudopapillary tumor of pancreas; Ultrasonography; Examination; Diagnosis

Cai DM, Li YZ, Ma BY, Ling WW, Jiang Y, Zhang LY, Zhong XF, Zhang JY, Song B. Diagnostic value of ultrasound in detection of solid pseudopapillary tumor of the pancreas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1803-1810 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1803.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1803>

摘要

目的: 探讨超声检查对于胰腺实性假乳头状瘤(solid-pseudopapillary tumor of the pancreas, SPTs)的诊断价值。

方法: 回顾性分析经病理证实的30例胰腺SPTs的超声及超声造影(contrast enhanced ultrasonography, CEUS)表现。将病例分为常规超声组和超声造影两组, 利用SPSS18.0软件, 用两独立样本 χ^2 检验的Fisher确切概率法, 计算两组方法是否有统计学差异。

结果: 30例患者中, 男性1例, 女性29例, 年

■背景资料

胰腺实性假乳头状瘤(solid-pseudopapillary tumor of the pancreas, SPTs)是一种罕见的胰腺交界性肿瘤, 常规超声在定性诊断时由于缺乏特异性声像图特点而常常发生误诊, 为了提高超声对于该肿瘤诊断的准确性, 我们提出利用超声造影(contrast enhanced ultrasonography, CEUS)的方法对该肿瘤进行检查, 并取得了一定的效果。

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

CEUS早已不再单纯应用于肝脏的肿瘤,对胰腺炎、胰腺肿瘤也有广泛的应用。SPTs由于发病率低,CEUS方面的报道也较胰腺其他肿瘤少。

龄30.5岁,其中肿块位于胰头有14例、胰体有4例、胰尾有12例,肿物大小约 $1.5\text{ cm} \times 1.1\text{ cm} \times 1.8\text{ cm}$ - $21\text{ cm} \times 11\text{ cm} \times 15\text{ cm}$ 。常规超声组诊断17例,漏诊1例,误诊为胰腺其他肿瘤8例。超声造影组诊断4例,误诊为胰腺其他肿瘤1例。诊断符合率方面:常规超声组65.4%(17/26);超声造影组75%(3/4)。两组数据统计结果: $P = 0.593$,说明两种方法之间还不具有统计学差异。

结论: SPTs具有一定的声像图定特点及临床特点,特别是CEUS后,了解这些能提高超声对SPTs的诊断水平。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺; 实性假乳头状瘤; 超声; 检查; 诊断

核心提示: 超声检查是胰腺实性假乳头状瘤(solid-pseudopapillary tumor of the pancreas, SPTs)的最为常规的方法。对于定性诊断方面,通过超声造影(contrast enhanced ultrasonography, CEUS)可以发现SPTs的造影模式呈现出“快进快出”的特点,这与其病理结构是有一定关系的。CEUS能够给超声医生带来更多的有关病灶的影像及灌注信息和提高诊断的信心,对其定性诊断有一定帮助,是一种有效、方便、安全的检查手段。

蔡迪明, 李永忠, 马步云, 凌文武, 姜勇, 张凌燕, 钟晓绯, 张静漪, 宋彬. 超声检查对于胰腺实性假乳头状瘤诊断的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1803-1810 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1803.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1803>

0 引言

胰腺实性假乳头状瘤(solid-pseudopapillary tumor of the pancreas, SPTs), 1959年由Frantz首次报道^[1], 约占全部胰腺肿瘤的1%-2%^[2-4], 是一种罕见的并逐渐被认识的低度恶性胰腺肿瘤。超声是检查胰腺肿瘤的最为常规的筛查手段之一, 但对于SPTs缺乏足够的声像图特点^[5,6]。超声造影(contrast enhanced ultrasonography, CEUS)是一种新兴的超声技术, 已经广泛应用于胰腺炎和胰腺肿瘤的诊断^[7-11], 由D'Onofrio等^[12,13]率先报道应用。我们采用CEUS方法用于SPTs的检查中, 分析其是否对于SPTs的诊断有所帮助。本文回顾分析经我院证实的30例SPTs的超声及CEUS表现, 分析其声像图特点, 以提高超声对该病的诊断水平。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-04经我院收治30例患者, 其中男1例, 女29例, 年龄13-58岁, 平均年龄为30.5岁。本组患者术前多为发现上腹部隐痛、不适, 或因发现胰腺肿块、上腹部肿块前来就诊。所有病例均经手术治疗, 术前均进行超声检查, 术后标本均经病理证实。采用PHILIPS IU22型、GE LOGIQ E9、PHILIPS HD11型等彩超仪, 2-5 MHz宽频探头, 选用腹部条件设置, 彩色增益调至刚出现噪音之前为止。

1.2 方法 用二维超声连续横切及纵切观察胰腺大小、形态、包膜、内部回声、血流分布; 对病变组织记录胰腺肿块的部位、大小、形态、边界、内部回声等征象; 测量肿块内部和或周边动脉收缩期最大血流速度、舒张末期血流速度、阻力指数和静脉平均血流速度等参数, 取样时使声束与血流夹角 $<60^\circ$ 。检查胰腺周围有无淋巴结肿大, 肝脏及其他脏器有无转移病灶。造影组病例造影剂使用声洛维, 5 mL生理盐水溶解以后, 经肘正中静脉团注, 2.0-2.4 mL/次, 采用低机械指数造影剂谐波成像软件, 记录肿块造影增强模式及特点。

2 结果

2.1 超声结果 所有胰腺SPTs均经手术与病理证实。胰腺肿块大小约 $1.5\text{ cm} \times 1.1\text{ cm} \times 1.8\text{ cm}$ - $21\text{ cm} \times 10\text{ cm} \times 15\text{ cm}$, 其中直径 $<3\text{ cm}$ 病例数共5例(图1), 占总数16.7%(5/30)。超声诊断29例, 漏诊1例。肿块位于胰头14例、胰体4例、胰尾12例。肿物中包膜完整28例, 2例呈浸润生长或转移, 其中1例伴肝脏多灶转移, 1例伴有胰腺实质浸润。术后病理证实4例肿瘤细胞具有倾向恶性倾向或低度恶性。本组病例肿块均见于胰腺边缘, 肿块大部位位于胰腺外, 故虽然肿块较大, 主胰管因受压迫出现扩张仅1例(图2)。肝脏多灶转移病灶, 最大约 $9.0\text{ cm} \times 4.5\text{ cm} \times 5.7\text{ cm}$ (图3)。

将本组病例分为两组, 26例行常规检查, 4例行CEUS检查。常规超声组诊断17例, 漏诊1例, 误诊为胰腺其他肿瘤8例。超声造影组诊断4例, 误诊为胰腺其他肿瘤1例。诊断符合率, 常规超声组65.4%(17/26); 超声造影组75%(3/4)。使用两独立样本 χ^2 检验的Fisher确切概率法, 比较两者之间差异是否有统计学意义, 结果 $P = 0.593$ (表1), 说明二者之间还不具有统计学差异。

本组SPTs中, 减弱回声27例, 占90%(27/30),

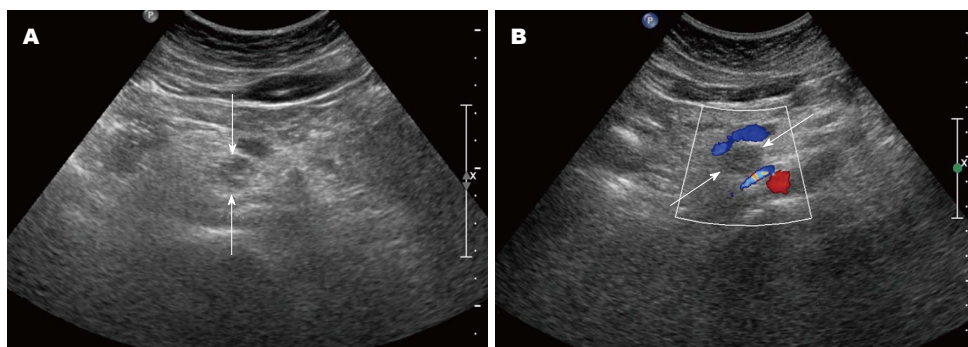


图 1 病例1, 女, 38岁. 胰腺钩突区占位(白色箭头), 大小约1.5 cm × 1.1 cm, 呈弱回声, 内无明显血流信号. A: 胰腺钩突区占位; B: 胰腺钩突区占位彩色血流.



图 2 病例2, 女, 40岁. 胰头占位(白色箭头)伴主胰管扩张(黑色箭头), 病灶呈弱回声.

表 1 两种检查方法 χ^2 检验的Fisher确切概率法四格表(n)

	正确诊断	误诊及漏诊	合计
常规超声	17	9	26
超声造影	3	1	4
合计	20	10	30

稍强回声1例, 等回声1例, 无回声1例, 各占3.3%(1/30). 团块边界清楚26例, 占83.3%(26/30), 边界不清4例, 占16.7%(4/30)(表2). 团块形态规则24例, 占80%(24/30), 团块形态不规则6例, 占20%(6/30). 团块内部回声不均匀23例, 占76.7%(23/30), 内部均匀7例, 占23.3%(7/30). 团块内回声呈实性6例, 占20%(6/30), 团块内部呈囊实性23例(图4), 占76.7%(23/30), 团块内部呈囊性1例, 占3.3%(1/30); 团块内查见片状强回声(钙化)6例, 占20%(6/30). 团块内无血流信号24例, 占80%(24/30), 内部可见点状血流信号6例, 占20%(6/30).

CEUS表现, 动脉期肿块边缘及内壁实性成分呈厚壁样高增强, 肿块内可见大片无增强区域, 表现为厚壁囊性增强, 实质期肿块内壁实性

表 2 STPs超声声像图表现

肿块性质	病例数(n)	发生率(%)
边界		
清楚	26	66.7
不清楚	4	33.3
形态		
规则	24	80
不规则	6	20
病灶回声		
稍强回声	1	3.3
等回声	1	3.3
弱回声	27	90
无回声	1	3.3
病灶均匀与否		
均匀	7	23.3
不均匀	23	76.7
病灶回声性质		
实性	6	20
囊实性	23	76.7
囊性	1	3.3
病灶是否钙化		
有钙化	6	20
无钙化	24	80
主胰管		
有扩张	1	3.3
无扩张	29	96.7
病灶内血流		
有血流	6	20
无血流	24	80

成分快速廓清, 表现为厚壁转变为薄壁, 肿块内无增强区域面积较动脉期明显扩大, 实质晚期肿块边缘囊壁逐步廓清, 呈低增强(图5).

2.2 病理表现

2.2.1 巨检: 30例SPTs有完整包膜28例, 肿瘤切面呈棕褐色肿块, 呈圆形、椭圆形, 外有完整或不完整的纤维薄膜, 其表面血管丰富. 2例包膜不

■ 相关报道

D'Onofrio等于2004年率先报道CEUS应用于胰腺疾病的研究, 并得到广泛的影响, 对CEUS技术应用于胰腺肿瘤诊断方面具有开创性的意义.

■创新盘点

本文收集了较大样本的SPTs病例, 比较详尽地描述了常规超声和CEUS对SPTs的各自超声图像的表现和特点, 对超声医生了解该病和定性诊断都有较大的帮助。

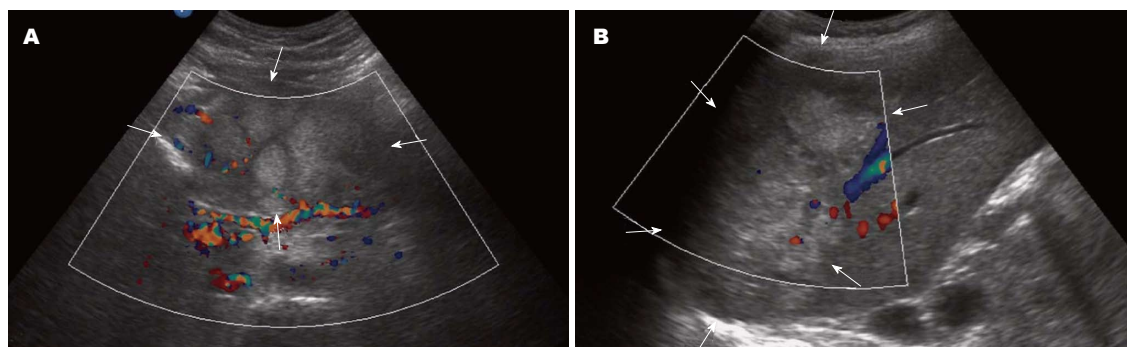


图3 病例3, 女, 19岁. A: 胰腺占位(白色箭头); B: 肝脏内多发转移灶(白色箭头). 呈强回声, 内无明显血流信号。

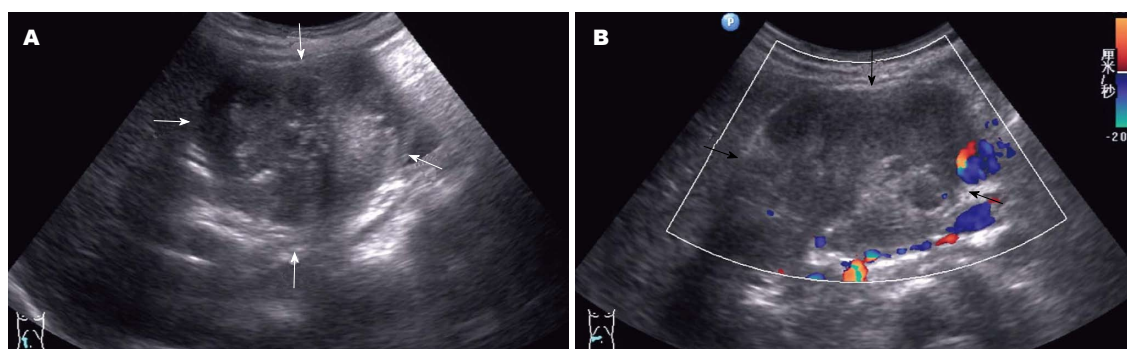


图4 病例4, 女, 16岁. A: 胰腺占位(白色箭头); B: 胰腺占位血流(黑色箭头), 呈囊实性弱回声, 内无明显血流信号。

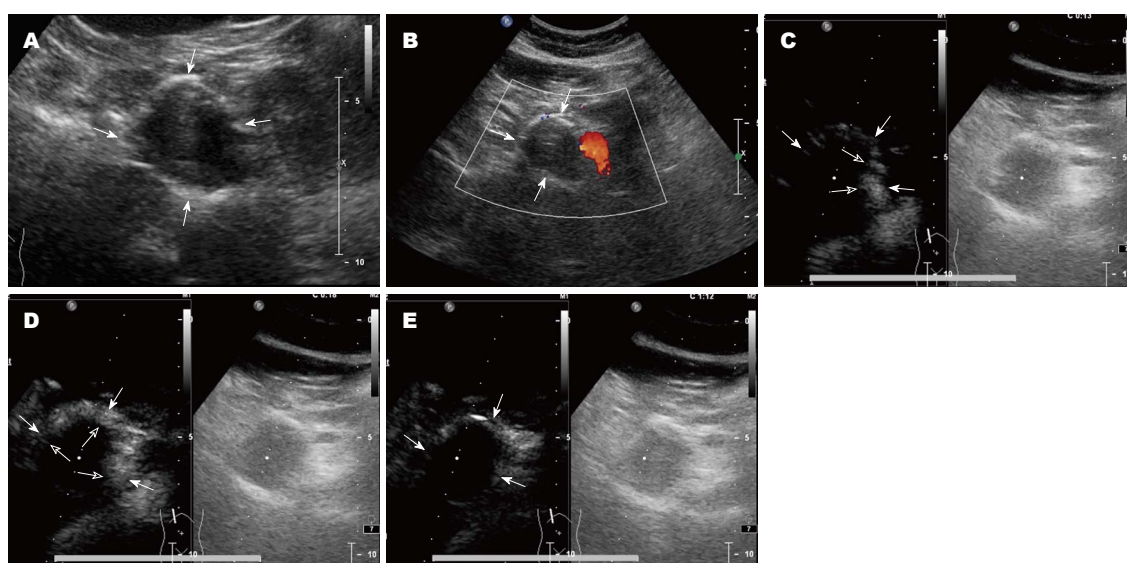


图5 病例5, 女, 32岁, 胰头、体交界处占位(白色箭头). A: 常规超声检查胰腺占位; B: 彩色血流表现为内部无血流信号; C: CUES, 13 s动脉期囊壁及内部实性成分快速不均匀增强(空心箭头); D: 18 s, 动脉期囊壁及内部实性成分增强, 呈厚壁表现(空心箭头); E: 72 s, 实质期内部实性成分廓清呈低增强, 囊壁呈等增强, 呈薄壁表现(白色箭头), 肿块内无增强区面积扩大。

完整且与周围界限不清, 与周围组织部分粘连。肿瘤切面呈囊实性, 内壁常附有松软暗红色絮状物, 囊性区呈多房状, 实性区域与囊性区域以不同比例的混合, 囊性区内含暗褐色粘稠液体, 实性区域呈灰褐色, 6例瘤体内部可见钙化。

2.2.2 镜检: 组织学上, 所有病例表现相似: 均可

见实性区, 假乳头样结构和囊性区。实性区瘤细胞呈圆或椭圆形、片状或巢状排列, 内有纤细中小血管分隔, 其呈胞质浅淡或透明状, 核呈卵圆形或卵圆形, 核仁不明显, 罕有核分裂象。假乳头状区显示特征性分支状乳头, 内含有纤维血管轴心, 肿瘤细胞在乳头表面排列整齐, 形成

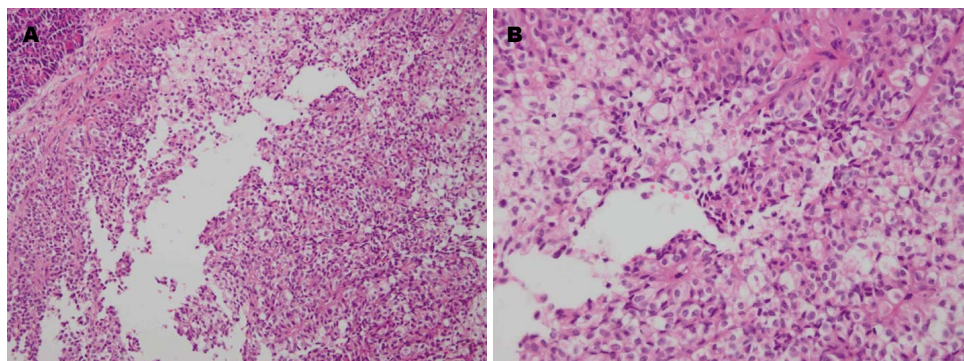


图 6 病理HE染色. A: 肿瘤细胞呈实性、假乳头状或假腺样排列, 灶性囊性变, 可见较多胞浆透明的泡沫细胞聚集. 肿瘤与胰腺实质分界清楚(HE $\times 200$); B: 肿瘤细胞呈圆形或卵圆形, 小而一致, 胞浆淡红或透明, 核仁不明显, 核分裂罕见(HE $\times 400$).

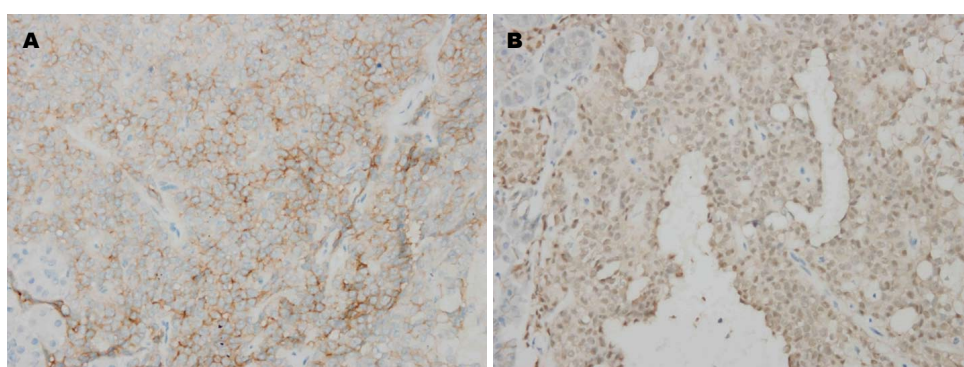


图 7 病理免疫组织化学(DAB $\times 400$). A: 免疫组织化学染色CD10肿瘤细胞膜呈棕黄色阳性; B: 免疫组织化学染色 β -Catenin肿瘤细胞核呈棕黄色阳性.

假小梁, 乳头轴心内胶原纤维部分黏液样变性. 其间有大量薄壁血管或血窦. 间质内可见泡沫组织细胞聚集及胆固醇裂隙. 囊性区内常常可见出血、坏死(图6).

2.2.3 免疫组织化学: 30例SPTP 中18例CD56(+), 26例CD10(+), 15例Syn(+), 18例 β -Catenin(+), 5例Vim(+), 4例Ki-67(+), 3例CK8(+), 2例CK18(+), 3例CgA(+), 3例PR(+)(图7).

3 讨论

SPTs是一种较为罕见的胰腺低度恶性肿瘤, 好发于青春期或年轻女性, 本组病例中女29例, 占96.7%(29/30), 年龄13-58岁, 平均年龄为30.5岁. 由于其发病与性别、年龄有密切联系, 因而在诊断时要注意这些特点, 对于SPTs的诊断有一定的帮助^[6,14].

SPTs属于低度恶性肿瘤, 较少出现浸润或转移. 本组病例中1例出现肝脏多灶转移者, 病灶也是最大的, 大小约21 cm \times 10 cm \times 15 cm, 肝内查见多个囊实混合性及稍强回声团, 最大约9.0 cm

\times 4.5 cm, 边界清楚, 形态不规则, 内血流信号不丰富. 从声像图表现可以看出肝内转移灶的表现与SPTs的是相似的. 本组病例中还有1例, 术中发现SPTs对于胰腺实质浸润, 病灶大小为4.0 cm \times 3.7 cm \times 3.5 cm, 术后病理证实肿瘤浸润胰腺实质. 由此可见SPTs出现转移或浸润, 与其病灶大小并无直接关系, 而与肿瘤的生物学特性密切相关. 本组病例术中取得数个淋巴结标本, 经病理检查均未发现淋巴结受累, 也证实了SPTs是一种低度恶性肿瘤, 淋巴结转移罕见^[15].

SPTs往往位于胰腺边缘, 呈膨胀性向外生长, 因而胰管罕有因肿块压迫梗阻而出现扩张的表现, 本组病例中仅1例出现主胰管扩张, 主胰管无扩张29例, 占总病例96.7%. 而胰腺恶性肿瘤往往因呈浸润性生长, 胰管会因肿块压迫梗阻而出现扩张的表现. 这也是SPTs与胰腺恶性肿瘤鉴别的鉴别要点. SPTs内部回声以弱回声为主, 常常表现为囊实混合回声, 本组病例中弱回声27例, 而囊实混合回声亦有23例, 分别占总数90.0%和76.7%. 钙化灶在SPTs中亦是常见, 本

应用要点

本文对于SPTs的CEUS病例数较少, 因而统计方面还没有显示出与常规超声有明显的差异. 我们相信随着造影病例的增加, CEUS会在诊断方面体现应有的价值.

■同行评价

SPTs少见,作者能收集30例,实属不易,尽管国内有关常规超声检查对于其诊断价值报道较多,但与CEUS对比观察的报道较少,对临床应用有一定参考价值。

组病例中6例出现钙化,占总病例20%。由于SPTs内部以液性成分为主,可以出现内见乳头状隆起,而由于生长速度过快而出现出血、液化、出血以及机化等病理改变^[16]。而SPTs中,乳头状隆起中,血供较为丰富,但由于出现坏死,因而多普勒超声往往不能检查出其血流状况,或仅见较为稀疏的血流信号。本组病例中,病灶内均未测出血流信号24例,占总数80%。

CEUS的表现,根据有关研究^[17-22],将胰腺造影的动脉期和实质期以30 s为界进行划分, SPTs总体表现为乏血供,动脉早期肿块边缘及内部实性成分表现为高增强,而实性成分间则表现为无增强,进入实质期后,团块实性成分增强模式快速廓清,呈低增强,包膜廓清较内部实性成分慢,表现为逐步低增强,实质晚期则较周围实质表现为低增强,因此SPTs的造影模式表现为“快进快出”,与本组SPTs的CEUS的表现一致。根据病理学特征及CT、MRI的影响表现^[23,24],结合CEUS的原理,我们认为形成以上征象的病理基础是: SPTs瘤细胞常排列成巢状、片状,其间被小血管分隔,肿瘤组织包绕血管形成类似“假菊团”,肿瘤组织之间存在广泛的血窦,CEUS后,超声造影剂的动脉期出现在血窦内,出现肿瘤内实性成分及内壁实性成分的快速高增强表现。而远离血管的肿瘤细胞容易产生逆行性变,表现内囊性成分,为不同程度的液化、坏死和出血,故而内部表现为造影后无增强的表现。由于血窦内血流速度快,造影剂不能长时间停留,实质期是该区域内造影剂廓清而表现为低增强,从而形成CEUS“快进快出”的表现^[25,26]。

根据Baek等研究^[27], SPTs的直径<3 cm,其CT或MRI的表现异于SPTs直径>3 cm组,被认为是SPTs的“不典型表现”。本组病例中,直径<3 cm病例数共5例,占总数16.7%(5/30)。分析这些声像图特点:由于肿块体积较小,肿块内部以实性成分为主,回声较为均匀,没有出现明显液化成分,回声有等回声、弱回声及无回声,无明显血流信号,边缘清晰,形态规则。而SPTs直径>3 cm组共计25例,占总数83.3%(24/30)。肿块内可见明显的囊实性成分,回声也以弱回声为主,无明显血流信号,边缘清楚,形态欠规则。可以可见,体积的大小与声像图的表现有一定联系,与该文献报道一致。SPTs通常体积较大,本组病例中直径>5 cm的肿块24例,占总数的80%(24/30)。

当然,对于直径超过10 cm巨大肿块,超声在确定肿块来源于胰腺与否方面还存在一定的困难^[28]。SPTs需要与其他胰腺肿瘤鉴别,如胰腺囊腺瘤、无功能性神经内分泌肿瘤。胰腺囊腺瘤表现为低回声,内部也以囊实混合回声为主,好发于中老年女性,能引起主胰管的扩张,CEUS的增强模式以乏血供表现为主,内部仅是分隔及实性成分出可见增强,但病灶边界不清,常常浸润实质而使病灶形态不规整、边界不清楚。无功能性神经内分泌肿瘤多以等回声为主,内部以实性为主,较少出现液性暗区,且内部血流信号丰富,CEUS的增强模式以富血供表现为主,表现为动脉期病灶内部高增强,较SPTs的增强快,而廓清较SPTs慢^[29,30]。诊断要点:年轻女性,腹痛不明显或肿块大小与体征不对称,超声表现为胰腺肿块体积较大,肿块以弱回声为主,内部回声以囊实性成分为主,边界清楚,形态规则,可见点、片状钙化强回声,内部罕有血流信号,主胰管无扩张。特别要注意的是对于直径<3 cm的SPTs,要注意声像图表现的“不典型”性,减少误诊的发生。CUES表现为动脉期肿块边缘高增强,内部实性成分呈高增强,液性成分呈无增强,实质期表现为内部实性成分快速廓清,呈低增强或稍低增强,边缘呈稍高增强。

本组病例中,两组病例进行统计分析后,发现结果 $P>0.05$,说明两种方法没有统计学意义。我们认为最主要的原因是造影组病例太少($n=4$),在以后的工作中,提高造影组病例数是进行统计分析的基础。本组病例中,超声造影组的诊断准确率要高于普通超声检查组(5.0% vs 65.4%),在一定程度上说明CEUS对于SPTs的诊断当中是有一定帮助的。通过CUES能够对检查者更多的诊断依据和诊断信心,特别是对于传统超声难以鉴别时,如胰腺囊腺瘤、神经内分泌肿瘤等, CUES能带来肿物更多的信息和提高检查者的诊断信心。

总之,对于SPTs诊断,超声及CUES能够提供安全、准确的诊断,是胰腺肿瘤检查的重要影像学手段之一。随着CUES的开展和不断成熟,我们相信能够在胰腺肿瘤的诊断和鉴别中发挥更加重要的作用。

4 参考文献

- 1 Fratz VK. Tumors of the pancreas. In: Anonymous atlas of tumor pathology. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1959: 32-33

- 2 Bektas H, Werner U, Kaaden S, Philippou S, Klöppel G, Klempnauer J. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas—a rare and frequently misdiagnosed neoplasm. *Langenbecks Arch Surg* 1999; 384: 39-43 [PMID: 10367628 DOI: 10.1007/s004230050171]
- 3 Matsunou H, Konishi F. Papillary-cystic neoplasm of the pancreas. A clinicopathologic study concerning the tumor aging and malignancy of nine cases. *Cancer* 1990; 65: 283-291 [PMID: 2295051 DOI: 10.1002/1097-0142(19900115)65:2<283::AID-CNCR2820650217>3.0.CO;2-X]
- 4 Martin RC, Klimstra DS, Brennan MF, Conlon KC. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: a surgical enigma? *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 35-40 [PMID: 11833495 DOI: 10.1245/aso.2002.9.1.35]
- 5 Buetow PC, Buck JL, Pantongrag-Brown L, Beck KG, Ros PR, Adair CF. Solid and papillary epithelial neoplasm of the pancreas: imaging-pathologic correlation on 56 cases. *Radiology* 1996; 199: 707-711 [PMID: 8637992]
- 6 Vtyurin BV, Chekmaryova IA, Dubova EA, Podgoranova MN, Shchegolev AI. Ultrastructural characteristics of solid pseudopapillary tumors of the pancreas. *Bull Exp Biol Med* 2011; 151: 230-233 [PMID: 22238757 DOI: 10.1007/s10517-011-1296-x]
- 7 Rickes S, Mönkemüller K, Malfertheiner P. Acute severe pancreatitis: contrast-enhanced sonography. *Abdom Imaging* 2007; 32: 362-364 [PMID: 17514345 DOI: 10.1007/s00261-007-9250-0]
- 8 Rickes S, Uhle C, Kahl S, Kolfenbach S, Monkemüller K, Effenberger O, Malfertheiner P. Echo enhanced ultrasound: a new valid initial imaging approach for severe acute pancreatitis. *Gut* 2006; 55: 74-78 [PMID: 16033880 DOI: 10.1136/gut.2005.070276]
- 9 D'Onofrio M, Gallotti A, Principe F, Mucelli RP. Contrast-enhanced ultrasound of the pancreas. *World J Radiol* 2010; 2: 97-102 [PMID: 21160942 DOI: 10.4329/wjr.v2.i3.97]
- 10 Rickes S, Rauh P, Uhle C, Ensberg D, Mönkemüller K, Malfertheiner P. Contrast-enhanced sonography in pancreatic diseases. *Eur J Radiol* 2007; 64: 183-188 [PMID: 17869470 DOI: 10.1016/j.ejrad.2007.06.035]
- 11 Rennert J, Farkas S, Georgieva M, Loss M, Dornia C, Jung W, Stroszczyński C, Jung EM. Identification of early complications following pancreas and renal transplantation using contrast enhanced ultrasound (CEUS) - first results. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013 Feb 4. [Epub ahead of print] [PMID: 23380964]
- 12 D'Onofrio M, Caffarri S, Zamboni G, Falconi M, Mansueto G. Contrast-enhanced ultrasonography in the characterization of pancreatic mucinous cystadenoma. *J Ultrasound Med* 2004; 23: 1125-1129 [PMID: 15284474]
- 13 D'Onofrio M, Mansueto G, Falconi M, Procacci C. Neuroendocrine pancreatic tumor: value of contrast enhanced ultrasonography. *Abdom Imaging* 2004; 29: 246-258 [PMID: 15290954 DOI: 10.1007/s00261-003-0097-8]
- 14 Ohtsuka T, Tsutsumi K, Ideno N, Takahata S, Nakamura M, Tanaka M. [Pancreatic tumor: progress in diagnosis and treatment. Topics: III. Pancreatic endocrine tumor; 2. Current status of the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi* 2012; 101: 109-115 [PMID: 22413468]
- 15 Li JX, Wu H, Huang JW, Prasoon P, Zeng Y. Synchronous intraoperative radiofrequency ablation for multiple liver metastasis and resection of giant solid pseudopapillary tumors of the pancreas. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 1661-1663 [PMID: 22800840]
- 16 The challenge of combination antiretroviral therapy. Proceedings of a symposium. June 20, 1990, San Francisco, California. *Am J Med* 1991; 90: 1S-30S [PMID: 2018045]
- 17 Tang SS, Huang LP, Wang Y, Ma Y. Solid pseudopapillary tumors of the pancreas: contrast-enhanced sonographic features. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 257-263 [PMID: 22298869]
- 18 Napoleon B, Alvarez-Sanchez MV, Gincoul R, Pujol B, Lefort C, Lepilliez V, Labadie M, Souquet JC, Queneau PE, Scoazec JY, Chayvialle JA, Ponchon T. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound in solid lesions of the pancreas: results of a pilot study. *Endoscopy* 2010; 42: 564-570 [PMID: 20593334 DOI: 10.1055/s-0030-1255537]
- 19 Xie XY, Xu EJ, Xu HX, Xu ZF, Liu GJ, Zheng YL, Liang JY, Huang B, Lü MD. [Role of contrast-enhanced ultrasound in the differentiation of solid focal lesions of pancreas]. *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 2008; 30: 35-39 [PMID: 18361050]
- 20 Grossjohann HS, Bachmann Nielsen M, Nielsen KR, Hansen CP, Svendsen LB, Stadil F. Evaluation of contrast-enhanced ultrasound of the pancreas combined with concurrent hormone stimulation. *Ultraschall Med* 2008; 29: 520-524 [PMID: 19241509 DOI: 10.1055/s-2007-963292]
- 21 Yao X, Ji Y, Zeng M, Rao S, Yang B. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas: cross-sectional imaging and pathologic correlation. *Pancreas* 2010; 39: 486-491 [PMID: 19940797 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181bd6839]
- 22 Badea R, Seicean A, Diaconu B, Stan-Iuga R, Sparchez Z, Tantau M, Socaciu M. Contrast-enhanced ultrasound of the pancreas—a method beyond its potential or a new diagnostic standard? *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 237-242 [PMID: 19565060]
- 23 Kawamoto S, Scudiere J, Hruban RH, Wolfgang CL, Cameron JL, Fishman EK. Solid-pseudopapillary neoplasm of the pancreas: spectrum of findings on multidetector CT. *Clin Imaging* 2011; 35: 21-28 [PMID: 21237415 DOI: 10.1016/j.clinimag.2009.11.007]
- 24 Cantisani V, Mortelet KJ, Levy A, Glickman JN, Ricci P, Passariello R, Ros PR, Silverman SG. MR imaging features of solid pseudopapillary tumor of the pancreas in adult and pediatric patients. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 395-401 [PMID: 12876017 DOI: 10.2214/ajr.181.2.1810395]
- 25 姜欣, 张全武, 肖艳景, 赵红梅, 和莹莹. 胰腺实性假乳头状瘤的临床病理特征. *肿瘤基础与临床* 2011; (1): 50-51
- 26 杨世平, 鲁昌立, 黄子星, 宋彬, 吴蕊. 胰腺实性假乳头状瘤的CT表现与病理对照(附8例分析). *中国普外基础与临床杂志* 2011; (1): 85-88
- 27 Baek JH, Lee JM, Kim SH, Kim SJ, Kim SH, Lee JY, Han JK, Choi BI. Small (< 3 cm) solid pseudopapillary tumors of the pancreas at multiphasic multidetector CT. *Radiology* 2010; 257: 97-106 [PMID: 20663966 DOI: 10.1148/radiol.10092089]
- 28 周爱香, 陈伟, 李凌, 李保田, 阴海霞, 屈娟娟, 李成群. 胰腺实性假乳头状瘤的超声诊断及误诊相关因素. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 920-924
- 29 Sahara S, Kawai N, Sato M, Ikoma A, Minamiguchi H, Nakai M, Sanda H, Nakata K, Takeuchi T, Tanaka T, Shirai S, Sonomura T. Differentiation of pancreatic serous cystadenoma from endocrine tumor and intraductal papillary mucinous neoplasm

based on washout pattern on multiphase CT. *J Comput Assist Tomogr* 2012; 36: 231-236 [PMID: 22446365 DOI: 10.1097/RCT.0b013e3182483bb7]
30 Hayashi K, Fujimitsu R, Ida M, Sakamoto K, Hi-

gashihara H, Hamada Y, Yoshimitsu K. CT differentiation of solid serous cystadenoma vs endocrine tumor of the pancreas. *Eur J Radiol* 2012; 81: e203-e208 [PMID: 21330085 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.01.111]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

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

ERCP术前胆总管结石诊断238例

陈勇, 曾艳凌, 林志辉

陈勇, 曾艳凌, 林志辉, 福建医科大学省立临床医学院, 福建省立医院消化内科 福建省福州市 350001

陈勇, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床、教学工作和ERCP的操作。

作者贡献分布: 此论文由陈勇构思; 研究过程由陈勇与曾艳凌完成; 数据分析由陈勇完成; 论文写作由陈勇、曾艳凌及林志辉共同完成。

通讯作者: 陈勇, 副主任医师, 350001, 福建省福州市东街134号, 福建省立医院消化内科。13959137896@139.com

电话: 0591-87525985

收稿日期: 2013-04-25 修回日期: 2013-05-28

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

Diagnosis of common bile duct stones before ERCP: An analysis of 238 cases

Yong Chen, Yan-Ling Zeng, Zhi-Hui Lin

Yong Chen, Yan-Ling Zeng, Zhi-Hui Lin, Department of Gastroenterology, Fujian Provincial Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Correspondence to: Yong Chen, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Fujian Provincial Hospital, Fujian Medical University, 134 East Street, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. 13959137896@139.com

Received: 2013-04-25 Revised: 2013-05-28

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To optimize the choice of the diagnostic methods for common bile duct stones before endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: A retrospective analysis of clinical data for 238 patients who were suspected with common bile duct stones (CBDS) was performed. CBDS was graded using a single modality or combined modalities. In the single modality group, 16 patients were diagnosed by B ultrasound, 12 by CT, and 12 by magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP). In the combined modality group, 100 patients were diagnosed by B ultrasound and CT, 80 by B ultrasound and MRCP, 6 by CT and MRCP, and 12 by B ultrasound, CT and MRCP. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of B ultrasound, CT, and MRCP were calculated.

The accuracy of each method in diagnosis of CBDS ≥ 1.0 cm or ≤ 0.5 cm was compared.

RESULTS: The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of B ultrasound were 56.2%, 66.7%, 86.9%, 28.0%, and 58.3%, those of CT were 86.5%, 57.1%, 87.4%, 55.2%, 79.8%, and those of MRCP were 97.5%, 82.1%, 94.0%, 92.0%, and 93.6%, respectively. The accuracy of MRCP to diagnose CBDS was significantly higher than that of CT and B ultrasound (both $P < 0.01$). The accuracy of B ultrasound or CT in diagnosis of CBDS ≥ 1.0 cm was higher than that in diagnosis of CBDS ≤ 0.5 cm (both $P < 0.01$), while no significant difference was observed for MRCP ($P > 0.05$). MRCP was more accurate than CT in diagnosis of CBDS ≤ 0.5 cm ($P < 0.01$). Combined modalities were adopted in 83.2% of cases, mainly B ultrasound + MRCP or B ultrasound + CT, whose accuracy had no significant difference ($P > 0.05$).

CONCLUSION: B ultrasound is the preferred method for the diagnosis of CBDS before ERCP, and MRCP is the best choice. The accuracy of B ultrasound in diagnosis of CBDS ≥ 1.0 cm is higher, and B ultrasound can be alone used under restrictions conditions or in emergency situation. In cases of stones ≤ 0.5 cm, MRCP has a higher accuracy than CT. Overall, the detection rate of CBDS was best by MRCP, followed by CT and B ultrasound. Combined modalities (B ultrasound + CT or B ultrasound + MRCP) are adopted in the vast majority of clinical cases. The choice of B ultrasound + CT + MRCP is not desirable, unless diagnosis can not be established using the first two modalities.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Common bile duct stones; Diagnosis; B ultrasound; Electronic computer X-ray tomography technique; Magnetic resonance cholangiopancreatography

Chen Y, Zeng YL, Lin ZH. Diagnosis of common bile duct stones before ERCP: An analysis of 238 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1811-1816 URL:

■背景资料

胆石症是临床常见病和多发病,胆总管结石所占的比例也较大。十二指肠乳头肌切开取石术已成为胆总管结石微创治疗的重要手段。核磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)术前诊断至关重要。而无创性的检查方法如B超、电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)、MRCP已得到临床医师及患者家属的认可,但没必要每个患者每项都得检查。因此,需要对B超、CT、MRCP进行优化选择。

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

■创新盘点

本文通过对B超、CT、MRCP检查的优化选择,确立联合检查临床最常用-B超+MRCP或B超+CT。B超为初筛手段,当胆总管结石 ≥ 1.0 cm时,在条件限制或紧急情况下可做为单一的检查方法。MRCP为最佳选择。

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1811.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1811>

摘要

目的: 优化内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术前胆总管结石诊断方法的选择。

方法: 回顾性分析238例拟诊胆总管结石患者的临床资料,分单一检查组和联合检查组。单一检查组: B超16例,电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)12例,核磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)12例;联合检查组: B超+CT 100例, B超+MRCP 80例, CT+MRCP 6例, B超+CT+MRCP 12例。计算B超、CT、MRCP的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度。比较胆总管结石 ≥ 1.0 cm和 ≤ 0.5 cm时各种检查方法的准确度。

结果: 敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度B超分别为56.2%、66.7%、86.9%、28.0%、58.3%; CT分别为86.5%、57.1%、87.4%、55.2%、79.8%; MRCP分别为97.5%、82.1%、94.0%、92.0%、93.6%。MRCP对胆总管结石诊断的准确度明显高于CT和B超($P<0.01$)。胆总管结石 ≥ 1.0 cm选择B超或CT较 ≤ 0.5 cm准确率高(均 $P<0.01$),选择MRCP无差异($P>0.05$); 胆总管结石 ≤ 0.5 cm选择MRCP较CT更准确($P<0.01$); 联合检查占83.2%,以B超+MRCP和B超+CT为主,两者的准确率无差异($P>0.05$)。

结论: B超是ERCP术前病因诊断的首选检查方法,MRCP是最佳选择。当胆总管结石 ≥ 1.0 cm时, B超诊断的准确度较高,在条件限制或急诊情况下可单选;当结石 ≤ 0.5 cm时,选择MRCP较CT的准确度高。总体来说,MRCP的检出率最好,CT次之,B超最差。临床绝大多数选择联合检查: B超+CT或B超+MRCP,以B超+MRCP的联合检查的准确度更高,但两者无统计学差异。而B超+CT+MRCP联合检查的选择不可取,除非前两项检查方法的诊断有出入或不能明确。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胆总管结石; 诊断; B超; 电子计算机X射线断层扫描技术; 核磁共振胰胆管成像

核心提示: 本文认为B超是逆行胰胆管造影

(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术前病因诊断的初筛方法。不论结石大小,核磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangio-pancreatography, MRCP)对胆总管结石的检出率最高。临床最常选择B超+MRCP或B超+CT联合检查,结石 ≤ 0.5 cm时,选择B超+MRCP最佳。除非前两项检查方法的诊断有出入或不能明确,才考虑进行B超+CT+MRCP联合检查。

陈勇, 曾艳凌, 林志辉. ERCP术前胆总管结石诊断238例. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1811-1816 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1811.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1811>

0 引言

随着逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的不断完善和相关配件的成功开发应用,ERCP取石术已成为胆总管结石内镜下微创治疗的主要手段。因而,选择必要的术前诊断方法以及时明确胆总管是否有结石存在显得尤为关键。本文分析238例临床拟诊胆总管结石的住院患者ERCP术前相关诊断方法的选择: 超声检查(B超),电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)和核磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)。

1 材料和方法

1.1 材料 选取本院2011-01/2011-12临床科室经B超、CT或MRCP检查判断为胆总管结石患者238例,其中男143例,女95例;年龄9-89岁,平均年龄63岁,60岁及以上老年患者148例,占62.2%。

1.2 方法

1.2.1 分组及检查顺序: 分组: 根据临床选择B超、CT和MRCP检查方法种类不同而分单一检查组和联合检查组。单一检查组: B超16例, CT 12例, MRCP 12例; 联合检查组: B超+CT 100例, B超+MRCP 80例, CT+MRCP 6例, B超+CT+MRCP 12例。检查顺序: 两项及以上联合检查组B超为首选,MRCP为最后选择。

1.2.2 胆总管结石的诊断标准: 依据ERCP的胆总管显影及取出结石的大小和数目为“金标准”来判断B超、CT和MRCP的准确度。

统计学处理 采用SPSS17.0软件包进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为有统计学差异。并分别计算各检查项目的敏感度、

表 1 B超、CT和MRCP的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、准确度 (%)

分组	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
B超	56.2	66.7	86.9	28.0	58.3 ^d
CT	86.5	57.1	87.4	55.2	79.8 ^{bd}
MRCP	97.5	82.1	94.0	92.0	93.6

^b $P<0.01$ vs B超; ^d $P<0.01$ vs MRCP. CT: 电子计算机X射线断层扫描技术; MRCP: 核磁共振胰胆管成像.

表 2 胆总管结石 ≥ 1.0 cm和 ≤ 0.5 cm B超、CT、MRCP准确度的比较

分组	n (结石 ≤ 0.5 cm)	准确度 n (%)		P 值
		结石 ≥ 1.0 cm	结石 ≤ 0.5 cm	
B超	131(30)	85/101(84.2)	6/30(20.0)	<0.01
CT	99(41)	52/58(89.7)	25/41(61.0)	<0.01
MRCP	99(44)	55/55(100.0)	40/44(90.1)	>0.05

CT: 电子计算机X射线断层扫描技术. MRCP: 核磁共振胰胆管成像.

特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度.

2 结果

238例患者ERCP术前检查: B超208例, CT 130例, MRCP 110例; 计算其敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度(表1).

根据胆总管结石大小以 ≥ 1.0 cm和 ≤ 0.5 cm比较B超、CT、MRCP的准确度: 结石 ≥ 1.0 cm选择B超101例, 阳性85例, 准确度84.2%; 结石 ≤ 0.5 cm者30例, 阳性6例, 准确度仅20.0%. 结石 ≥ 1.0 cm选择CT58例, 阳性52例, 准确度89.7%; 结石 ≤ 0.5 cm者41例, 阳性25例, 准确度61.0%. 结石 ≥ 1.0 cm选择MRCP 55例, 阳性55例, 准确度100.0%; 结石 ≤ 0.5 cm者44例, 阳性40例, 准确度90.1%(表2). 结石 ≤ 0.5 cm者CT、MRCP准确度的比较(表3).

单一检查组中, 16例B超检查结石均 ≥ 1.0 cm, 阳性15例, 准确度93.8%; CT检查12例, 阳性10例, 准确度83.3%; MRCP检查12例均阳性, 准确度100.0%.

联合检查组中, 以选择B超+MRCP和B超+CT为主, B超+MRCP 80例, 阳性74例, 准确度95%; B超+CT 100例, 阳性86例, 准确度86%(表4); B超+CT+MRCP联合检查组中B超、CT、MRCP均真阳性3例, B超假阴性而CT和MRCP真阳性3例, B超和CT假阴性而MRCP真阳性2例, B超假阴性而CT和MRCP真阳性1例, B超和MRCP

真阳性而CT真阴性1例, B超、CT、MRCP均假阴性1例, B超、CT、MRCP均真阴性1例.

3 讨论

胆石症是我国的常见病和多发病, 胆总管结石占胆道结石的11%^[1], 国外文献报告胆囊结石并存胆总管结石约为10%^[2], 而索云生等^[3]报道可达18%. 随着人们生活水平的提高和饮食结构的变化, 我国已经成为胆总管结石的高发人群, 特别是高龄患者发病率也在逐年增多^[4]. 本组60岁及以上的老年患者占62.2%.

临床诊断胆总管结石的方法很多, 而无创的有确诊价值的方法如B超、CT、MRCP是目前临床最常用的. 文献报道B超的敏感度54.3%-92.3%, 特异度17.4%-97.8%, 因其简便、安全、可靠、结果快速、价格低廉, 并可反复探查的优点, 仍成为胆总管结石首选的检查方法^[5]. 本组首选B超检查208例, 占87.4%, 敏感度56.2%, 特异度66.7%, 与文献相符. B超的敏感度和特异度较低是因为胆总管结石易受前方的胃、十二指肠、横结肠的气体和内容物的影响以及难以探及整个胆总管, 也包括操作人员的临床经验, 对结石的辨别能力. 肝外胆管上段有肝脏作超声窗, 因而其结石较易显示, 准确性较高; 肝外胆管下段由于胃肠气体强回声的干扰, 尤其是含气肠袢的干扰, 时常不易显示. 此处病变的解剖位置隐蔽, 所以总胆管下段较

■应用要点

结合各家医院的仪器设备和操作医师的临床经验进行优化选择, 以提高ERCP术前胆总管结石诊断的准确率.

■同行评价

本文样本量较大,具有一定的参考意义。

表 3 胆总管结石 ≤ 0.5 cm CT、MRCP准确度的比较

分组	<i>n</i>	准确度 <i>n</i> (%)	<i>P</i> 值
CT	41	25/41(61.0)	<0.01
MRCP	44	40/44(90.1)	

CT: 电子计算机X射线断层扫描技术; MRCP: 核磁共振胰胆管成像。

表 4 B超+MRCP和B超+CT联合检查准确度的比较

	<i>n</i>	准确度 <i>n</i> (%)	<i>P</i> 值
B超+MRCP	80	74/80(92.5)	>0.05
B超+CT	100	86/100(86.0)	

CT: 电子计算机X射线断层扫描技术; MRCP: 核磁共振胰胆管成像。

小的结石显示率低^[6], 国外报道其显示率仅达36%-54%^[7]。陈敏华^[8]认为可试用饮水法、体位法、脂餐法等附加的检查法以提高胆总管结石的显示率。也可通过下列几点来协助诊断^[8]: (1)检查前禁食易产气的食物; (2)做好肠道准备; (3)让患者深呼吸并变换体位及多角度检查; (4)加压探头以推开部分胃肠气体; (5)合并胆管炎时应抗炎治疗后复查。尽管如此, B超基于对胆总管结石的诊断仍有价值, 即通过胆总管扩张, 在排除肿瘤、狭窄以后予以考虑。胆总管结石在B超诊断过程中以呈现强回声光团, 与管壁间有分界, 其后伴有声影, 管壁增厚为特点。排除以上的因素外, 结石越大, 呈现的强回声光团就越明显, B超的检出率就越高。而结石太小特别是小于声束直径而无声影且部分小结石可紧贴胆总管壁上, B超仅显示管壁回声毛糙、增厚、增强, 易造成漏诊^[9,10]。本组ERCP术前单选B超检查者16例胆总管结石均 ≥ 1.0 cm, 准确度高达93.8%。且胆总管结石 ≥ 1.0 cm与 ≤ 0.5 cm的B超检查的准确度相比差异非常显著($P<0.01$)。因此, 我们认为当胆总管结石 ≥ 1.0 cm时, 在条件限制或急诊情况下可单选B超, 可重复多次复查进一步明确。B超在不能明确诊断时, 应配合其他检查如CT或MRCP。

CT对高密度辨别率较高, 不受肠气、脂肪等影响。对十二指肠后侧及胰腺内胆管的病变可获得较准确的图像且不受人为主观影响。吴菲等^[11]报道胆总管结石CT的敏感度75.5%, 特异度80.0%, 准确度74.7%。本组的分别为86.5%、57.1%、79.8%。CT的准确度较B超高, 有显著差异, 但胆总管结石 ≤ 0.5 cm时, 其准确度仅61.0%, 不如MRCP的90.1%。可能与结石成分、密度和大小有一定关系。胆总管内约71%以胆红素为主的混合性结石, 在CT上表现为显影较好的高密度结石影^[12], 但CT对等密度结石和泥沙样结石的诊断有困难^[13], 等密度结石与周围胆汁缺乏足够的对比度, 不使用经胆道排泄的造影剂时, CT

容易造成漏诊^[14]。我们可以通过多层螺旋CT增强加三维重建等方式以提高等密度结石和阴性结石的检出率^[15,16], 有报道对胆总管微小结石的诊断不如磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)+MRCP^[17]。且检查较繁琐, 不适合于医疗条件差的基层医院和急诊情况。

MRCP应该说是胆总管结石非创伤性检查的“终极”方法。MRCP是利用重T2的效果, 即长TR加特长TE以增强胰胆管内长T2值的液性结构信号, 从而突出胰胆管影像。不需要造影剂, 能清晰显示胆管、胰管结构, 得到类似直接胆胰管造影的影像效果。2D MRCP的优点是扫描速度快, 图像伪影少, 图像质量高。缺点是图像的信息量少, 细小病变容易漏诊。3D MRCP优点是可以快速多层扫描, 进行三维重建, 利于胆结石的检出, 可以多方位观察整个胆总管的形态, 缺点是成像时间长, 受呼吸运动伪影, 三维重建时容易丢失信息, 影响真实性的反应^[18]。在MRCP的诊断中, 存在成像角度、进动后技术等许多技术性误区和胆胰共同部假结石征象、胆囊管重叠等认识性误区^[19], 为了克服上述MRCP存在的缺点和误区, 国内许多专家学者做了大量的临床研究。刘金有等^[20]报道2D MRCP、3D MRCP可以结合冠状位T2WI真稳态进动快速成像序列(fast imaging employing steady state acquisition, FIESTA)对胆总管结石的诊断更具有优越性。张太生等^[21]认为使用改良MRCP扫描方法和参数后, 胆总管微小结石的检出率可提高25%。董志坚等^[22]报道MRCP结合薄层T2WI-STIR序列对胆总管泥沙样结石的诊断较常规MRI+MRCP方法准确。宋彬等^[23]报道应结合患者的呼吸配合状况优化MRCP检查: 呼吸触发配合度达到一级优先使用快速恢复快速自旋回波序列2D R; 呼吸触发配合度不能达到一级的建议使用FIESTA 2D B。这样我们就可以赞同有的学者提出MRCP对胆总管结石的定位诊断准确率可达100%的看法^[24-26]。多数文献报道

MRCP对胆总管结石诊断的敏感度88%-93%, 特异度96.8%-100%, 准确度96.3%-99.2%^[27]. 本组的分别为97.5%、82.1%、93.6%. 其准确度明显高于CT和B超, 差异非常显著. 即便是胆总管结石 ≤ 0.5 cm时其结果也是一样的, 即与结石的大小无关. 况且胆总管结石在MRCP图像上的形态常表现为低信号, 呈圆形或卵圆形、“倒杯口征”、“靶征”或“胆管铸型”^[28-32]与金标准的ERCP显像基本一致. 鉴于MRCP对胆总管结石有较高的诊断价值, 可完全代替诊断性ERCP^[33]. 因此, MRCP是最佳选择, 但因其费用较高, 尚不能做为首选检查方法.

单一影像学检查为阴性者, 不能排除胆总管结石的存在, 应联合其他影像学检查协助诊断^[9,11]. 即时是阳性的结果, 若与临床表现及实验室检查不符, 也应联合检查, 以减少误诊. 本组联合检查有198例, 占83.2%. 以B超+CT和B超+MRCP为主, B超+MRCP的准确度最高, 为95.0%, 但与B超+CT 86.0%的无统计学差异. 有MRCP禁忌症的如体内有金属物体(各种金属支架置入术后)的患者可选择B超+CT联合检查; 有造影剂过敏禁忌症的患者可选择B超+MRCP联合检查. 因此, 拟诊为胆总管结石的患者, 在ERCP术前绝大多数选择B超+MRCP或B超+CT联合检查. 检查的顺序并非是同时进行的而是先进行B超检查, 不能明确诊断时再选择MRCP或CT检查. 而B超+CT+MRCP联合检查的选择并不可取, 对确诊胆总管结石无任何优越性. 这样可以避免增加患者的医疗费用, 同时减少医疗资源的浪费, 除非前两项检查方法的诊断有出入或不能明确. 本组3种方法联合检查12例, 仅占5.0%. 其中有3例全部真阳性应该属于选择不恰当, MRCP检查无假阳性和假阴性结果.

总之, B超、CT、MRCP在胆总管结石的诊断上各有优缺点, 应根据患者情况、病情严重程度及相关检查设备等多因素综合分析, 不能盲目全部检查. B超被公认为初筛检查, 可结合其他影像学检查如MRCP或CT进一步提高胆总管结石的诊断, 为胆总管结石ERCP微创取石术创造条件.

4 参考文献

- 1 孙春荣. EUS和ERCP、MRCP在可疑胆总管结石诊断中的临床价值. 医药论坛杂志 2010; 31: 29-30
- 2 Kama NA, Atli M, Doganay M, Kologlu M, Reis E, Dolapci M. Practical recommendations for the prediction and management of common bile duct

- stones in patients with gallstones. *Surg Endosc* 2001; 15: 942-945 [PMID: 11443474 DOI: 10.1007/s00464-001-0005-7]
- 3 索云生, 张明哲, 尹时能, 肖宏, 陈先林, 易斌, 李涛. 腹腔镜胆总管探查, 一期吻合和T管引流后胆道压力变化的比较. 中国微创外科杂志 2006; 6: 21-23
- 4 陈训如. 微创外科在胆道外科疾病治疗中的地位. 中华外科杂志 1999; 37: 659-696
- 5 吴宗杨, 郑鑫, 笪献峰, 刘青光. 胆囊结石合并胆总管结石预测模型的研究. 中国实用外科杂志 2010; 30: 214-216
- 6 陈敏华. 胆管疾病超声诊断进展. 中国超声医学杂志 2000; 16: 221-223
- 7 Sodickson A, Morteale KJ, Barish MA, Zou KH, Thibodeau S, Tempny CM. Three-dimensional fast-recovery fast spin-echo MRCP: comparison with two-dimensional single-shot fast spin-echo techniques. *Radiology* 2006; 238: 549-559 [PMID: 16436816 DOI: 10.1148/radiol.2382032065]
- 8 陈敏华. 消化系统疾病超声学. 北京: 北京出版社, 2002: 161-163
- 9 危安, 周丹, 刘冀宁. 胆总管结石的超声和CT诊断及误诊分析. 医学临床研究 2006; 23: 77-79
- 10 王瑞兰, 张艳华, 陈丽. 超声诊断胆总管结石阳性率及相关因素分析. 实用医技杂志 2008; 15: 1915-1917
- 11 吴菲, 王翠, 姜书山, 朱晓明, 李才林, 李道谨. 不同影像检查方法诊断胆总管结石的比较研究. 医学影像学杂志 2012; 22: 1140-1145
- 12 Neitlich JD, Topazian M, Smith RC, Gupta A, Burrell MI, Rosenfield AT. Detection of choledocholithiasis: comparison of unenhanced helical CT and endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Radiology* 1997; 203: 753-757 [PMID: 9169700]
- 13 冯浩, 姜萍, 唐学娣. 胆总管结石的CT诊断与误诊原因分析. 医学影像学杂志 2011; 21: 457-459
- 14 Schindera ST, Nelson RC, Paulson EK, DeLong DM, Merkle EM. Assessment of the optimal temporal window for intravenous CT cholangiography. *Eur Radiol* 2007; 17: 2531-2537 [PMID: 17609958 DOI: 10.1007/s00330-007-0709-8]
- 15 陆建东, 芋旭平, 徐向荣. MSCT对胆总管下段阴性结石的诊断价值. 实用医学影像杂志 2009; 10: 228-230
- 16 梁文琪, 邓少兵, 江玉蓉. 多层螺旋CT三维重建在统计胆总管多发结石中的价值. 影像与介入 2012; 2: 115-140
- 17 马跃虎, 殷信道, 顾建平, 张卫东, 徐辉. 多层螺旋CT阴性法胰胆管成像与MRCP结合MRI诊断胆总管结石的对比分析. 医学影像学杂志 2010; 20: 1548-1552
- 18 Aljiffry M, Abdulelah A, Walsh M, Peltekian K, Alwayn I, Molinari M. Evidence-based approach to cholangiocarcinoma: a systematic review of the current literature. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 134-147 [PMID: 19228515 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.09.007]
- 19 葛步军, 张宗明, 杨振燕. MRCP对胆总管结石的诊断价值. 肝胆胰外科杂志 2004; 16: 196-198
- 20 刘金有, 唐广山, 周光礼. 2D MRCP、3D MRCP结合冠状位T2WI对胆总管结石诊断价值的对比研究. 肝胆外科杂志 2012; 20: 33-35
- 21 张太生, 施万印, 殷信道, 王树智. MRCP参数及方法改良对胆总管小结石筛查的影响. 江苏医药 2009; 35: 395-397
- 22 董志坚, 马宁强, 巩宁, 师颖, 李斐. MRCP结合薄层T2WI-STIR序列对胆总管泥沙样结石的诊断准确性. 实用医学影像杂志 2011; 12: 227-229
- 23 宋彬, 张蓓, 王庆兵, 胡文娟, 徐晶晶. 腹腔镜胆囊切除术前MRCP诊断胆总管结石的检查方案优化研究. 临床放射学杂志 2012; 31: 56-60

- 24 Barish MA, Yucel EK, Ferrucci JT. Magnetic resonance cholangiopancreatography. *N Engl J Med* 1999; 341: 258-264 [PMID: 10413739 DOI: 10.1056/NEJM199907223410407]
- 25 张伟, 邵广瑞, 宋磊, 马蕾修. 肝外胆管梗阻性疾病的MRCP诊断价值. *中国现代普通外科进展* 2006; 9: 296-299
- 26 孙春荣. EUS和ERCP、MRCP在可疑胆总管结石诊断中的临床价值. *医药论坛杂志* 2010; 31: 29-30
- 27 余小忠, 方金洲, 李岳兴. MRCP在胆系结石中的应用价值与CT、B超对比研究. *医学影像学杂志* 2011; 21: 367-369
- 28 Taylor AC, Little AF, Hennessy OF, Banting SW, Smith PJ, Desmond PV. Prospective assessment of magnetic resonance cholangiopancreatography for noninvasive imaging of the biliary tree. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 17-22 [PMID: 11756908 DOI: 10.1067/mge.2002.120324]
- 29 Reinhold C, Bret PM. MR cholangiopancreatography. *Abdom Imaging* 1996; 21: 105-116 [PMID: 8661755 DOI: 10.1007/s002619900025]
- 30 Tripathi RP, Batra A, Kaushik S. Magnetic resonance cholangiopancreatography: evaluation in 150 patients. *Indian J Gastroenterol* 2002; 21: 105-109 [PMID: 12118921]
- 31 Calvo MM, Bujanda L, Heras I, Calderon A, Cabriada JL, Orive V, Martinez A, Capelastegi A. Magnetic resonance cholangiography versus ultrasound in the evaluation of the gallbladder. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 233-236 [PMID: 11873102]
- 32 Papaziogas B, Lazaridis C, Pavlidis T, Galanis I, Paraskevas G, Papaziogas T. Congenital web of the common bile duct in association with cholelithiasis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 271-273 [PMID: 12140619 DOI: 10.1007/s005340200031]
- 33 Varghese JC, Liddell RP, Farrell MA, Murray FE, Osborne DH, Lee MJ. Diagnostic accuracy of magnetic resonance cholangiopancreatography and ultrasound compared with direct cholangiography in the detection of choledocholithiasis. *Clin Radiol* 2000; 55: 25-35 [PMID: 10650107 DOI: 10.1053/crad.1999.0319]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

胰腺创伤的诊断与治疗

吕海旭, 钟翔宇, 崔云甫

吕海旭, 钟翔宇, 崔云甫, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

吕海旭, 硕士, 主要从事肝胆胰脾外科的临床研究.

作者贡献分布: 本文主要由吕海旭完成; 钟翔宇收集文献; 崔云甫审核.

通讯作者: 崔云甫, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科. yfcui777@hotmail.com

收稿日期: 2013-03-18 修回日期: 2013-04-13

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Diagnosis and treatment of traumatic pancreatic injuries

Hai-Xu Lv, Xiang-Yu Zhong, Yun-Fu Cui

Hai-Xu Lv, Xiang-Yu Zhong, Yun-Fu Cui, Department of General Surgery (Division I), the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yun-Fu Cui, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery (Division I), the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com

Received: 2013-03-18 Revised: 2013-04-13

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

Pancreatic trauma accounted for 1%-5% of all blunt abdominal injuries and 12% of penetrating abdominal injuries. Although pancreatic trauma is uncommon, its mortality is high. Early accurate diagnosis, selection of suitable means of treatment based on the degree of injury, and management of complications are issues that should be stressed in the treatment of pancreatic trauma. This article discusses the clinical diagnosis, treatment and complications of pancreatic trauma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic injury; Trauma; Diagnosis; Treatment

Lv HX, Zhong XY, Cui YF. Diagnosis and treatment of traumatic pancreatic injuries. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1817-1822 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1817.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1817>

摘要

胰腺创伤占闭合性腹部损伤的1%-5%. 而在穿透性腹部损伤中所占比例达到了12%. 由创伤造成的胰腺损伤虽然少见, 但死亡率很高. 早期准确的诊断、根据损伤程度选择适合的治疗的手段、创伤后并发症的处理是需要重点关注的问题. 本文探讨了胰腺创伤在临床中的诊断、治疗及并发症的处理.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺损伤; 创伤; 诊断; 治疗

核心提示: 对于胰腺创伤的患者来说, 较为准确的创伤分级和早期精确诊断, 有针对性的治疗手段以及并发症的处理是治疗的难点, 因此需要各个科室间的密切合作. 通过手术或保守治疗等方法, 挽救患者生命.

吕海旭, 钟翔宇, 崔云甫. 胰腺创伤的诊断与治疗. *世界华人消化杂志* 2013; 21(19): 1817-1822 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1817.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1817>

0 引言

胰腺创伤占闭合性腹部损伤的1%-5%^[1-4], 而在穿透性腹部损伤中所占比例达到了12%^[5]. 虽然胰腺创伤并不常见, 但是其死亡率却高达10%至30%^[6-9]. 胰腺与实质器官, 如肾、肝和脾, 空腔器官, 如十二指肠和胃, 血管结构, 如下腔静脉、门静脉和肠系膜上静脉等相毗邻, 当腹部受到外力冲击时(通常是安全带、方向盘造成的阻力), 这些器官就会将柔软的胰腺(特别是胰腺颈部)与坚硬脊柱挤压到一起形成伤害. 胰腺属于腹膜后位器官, 当创伤初期时症状往往会被掩盖, 导致诊断延误, 增加了患者的死亡风险.

1 胰腺创伤分级

为了使胰腺创伤的诊断和治疗能够规范化, 世界各地都对胰腺创伤进行了分级, 如最常用的美国创伤外科协会(American Association for the Surgery of Trauma, AAST)分级、Fery和

■背景资料

由创伤造成的胰腺损伤虽然少见, 但死亡率很高. 早期准确的诊断、根据损伤程度选择适合的治疗的手段、创伤后并发症的处理是需要重点关注问题.

■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 相关报道

目前国内关于胰腺创伤的文献报道较多,这些报道都是通过系统的临床研究所得出的结论,所以对临床工作有一定的指导作用。

表 1 1990年美国创伤外科协会器官损伤分级(胰腺部分)

等级	损伤程度
I	小血肿, 浅表裂伤, 无大胰管损伤
II	较大血肿, 较深裂伤, 无大胰管损伤
III	胰腺远端裂伤, 有大胰管损伤
IV	胰腺近端裂伤或累及壶腹部, 有大胰管损伤
V	胰头严重损伤, 有大胰管损伤

Wardell胰腺外伤分级和日本的Takishima分类法。但在国内最常用的标准是1990年AAST的器官损伤分级(organ injury classification, OIS)胰腺部分(表1)。此分级分为5个等级, 以胰腺创伤发生的解剖位置不同、存不存在胰管损伤和裂伤深度作为分级标准^[10]。I、II级创伤一般采用非手术方法治疗或者简单的穿刺引流, 而III级或更高的创伤往往需要开腹进行胰腺区重建或者进行清创引流术。此分级的优点在于能够与其他器官创伤分级交互关联, 并且可以融合到更为复杂的创伤评分系统。

2 诊断

2.1 实验室诊断 胰腺创伤可以呈现出很小临床特征, 所以应该与实验室检查数据相结合, 需要保持高度的警觉性。但是, 血清淀粉酶检查敏感性和特异性较低。高达35%的主胰管完全横断的胰腺创伤患者, 血清淀粉酶水平是正常的^[11]。从胰腺创伤发病开始定时间断测量淀粉酶水平可以提高测试的灵敏度。Ilahi等^[12]在73例钝性胰腺创伤的病例分析报告中认为, 至少在创伤3 h后血清淀粉酶水平才有意义。淀粉酶升高可以受很多因素影响, 胰腺损伤并不是唯一的原因, 唾液腺的分泌和十二指肠或空肠的破裂也会有导致淀粉酶水平升高的可能性。

2.2 影像学诊断

2.2.1 CT扫描: 计算机断层扫描(computerized tomographic scanning, CT)是评估胰腺创伤患者血流动力学是否正常首选方式。CT对胰腺创伤的诊断敏感性和特异性可达到85%^[13-16]。通过CT可以提示胰腺实质的损伤、胰腺周围或腹膜后血肿、胰周积液、胰周蜂窝织炎和胰腺和脾脏之间液体流动等的情况。主胰管损伤在胰腺创伤的发生率高达15%, 而多数胰胆管损伤的发生机制是穿透伤^[16,17]。已有研究表明, 胰腺创伤的深度与胰胆管损伤的风险成正比^[18]。越来越新型CT的出现为主胰管的损伤提高了精度。但是

现阶段的CT检查对胰腺创伤也存在一定的局限性。CT的扫描时间是一个决定检查准确性的重要因素。如果受伤后短期内进行检查, 20%-40%的急性闭合性胰腺创伤可能会出现假阴性^[6,19]。在最近的多中心回顾性研究, 至少40%的胰腺创伤是目前这一代16层和64层螺旋CT扫描仪无法诊断^[20]。因此, 如果血流动力学稳定的患者仍然需要怀疑是否具有手术指征, 此外外科医生应进一步对胰腺损伤的程度进行评估。进一步根据患者的个别情况进行后续的腹部CT扫描或磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangio pancreatography, MRCP)。

2.2.2 MRCP: MRCP是一种对评价腺创伤中胰管损伤程度非常价值的影像学检查手段^[21]。但是, MRCP不能被用于存在外伤患者, 检查前应对患者的基本生命体征进行评估并且使用前需要与家属签署扫描协议, 故不应用于初始检查。然而, 当初始影像学检查不能确定是否在胰腺损伤和胰胆管损伤时, MRCP可做为进一步检查的首选^[22,23]。在做MRCP时胰胆管容易同背景中小血管的信号重叠, 如今利用静脉给药(如扎喷酸葡胺)结合MRCP检查可以抑制背景小血管的信号提高胰管的成像质量^[24]。

2.2.3 内镜逆行胰胆管造影: 虽然MRCP相对于内镜逆行性胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)使用更加频繁, 但是ERCP却是对胰腺创伤中胰胆管损伤评价最有价值的手段。ERCP与其他的影像学检查相比优点是在检查的过程中如果需要可进行必要的干预, 例如支架管的放置和插管引流等辅助治疗, 但是有时因为患者脊柱受伤不能采用俯卧位或者存在潜在的其他脏器合并伤局限了ERCP的使用, 并且ERCP可能增加患者胆道感染的风险^[18]。

2.3 手术探查 手术探查评价胰腺创伤应利用在预先存在需要剖腹探查指征的患者^[25]。细致的胰腺评估必须建立在是否存在胰腺损伤, 切勿盲目依赖辅助检查而延误治疗时机。探查中可以利用Cattell-Braasch方案来评估胰头损伤和Mattox方案来评估胰尾损伤。一旦主胰胆管有可疑损伤应彻底检查胰头、体、颈各个部分。术中超声或者术中或术后的ERCP可有助于检测主胰管损伤^[26,27]。

3 治疗

3.1 非手术治疗 闭合性腹部外伤、轻度胰腺创

伤(I级或II级)或者CT扫描成创伤性胰腺炎的患者可以接受非手术治疗. 即使腹部其他实质器官遭受不需要手术治疗的创伤时, 一系列的实验室检查(例如: 血清淀粉酶、血清脂肪酶)也是必要的, 以防漏诊胰腺创伤. 对待临床查体指征或者实验室检查结果有波动的患者, 应该做进一步的影像学检查来评估胰管的损伤情况, 如患者确实存在需要实施急诊剖腹探查术的可能性, 术中评估是否存在胰腺创伤, 则无需额外的影响学检查^[28]. 有研究认为, 胰腺创伤的急性损伤期可采用先保守治疗方案, 急性期过后再行ERCP检查, 考虑需要手术治疗^[29]. 国外另有研究表示, 胰腺创伤的非手术治疗的失败率可达到26%, 应适当放宽手术指征^[30].

非手术治疗儿童胰腺创伤一直是一个有争议的话题. 曾有小规模的案例汇总报告报道了一些关于非手术治疗胰腺创伤的成功案例^[31,32]. Wood等^[33]在一个单一机构的病案回顾性分析中比较手术与非手术方法治疗儿童胰腺创伤(II-IV级). 此报道中述手术组对非手术组能够降低并发症的发生率(21% vs 7%, $P = 0.02$), 但是这两组的住院时间基本是相似的(13 d vs 17 d, $P = 0.82$). 虽然处理发生并发症的非手术患者还需要其他的手段, 但是保守治疗、经皮穿刺引流和内镜下胰腺囊肿胃造口术的效果是很有效的. 2007年, Houben等^[34]对9例胰腺创伤儿童使用内镜下放置支架的方法治疗胰胆管损伤. 虽然大部分(66%)的儿童存在胰周积液需要引流, 但是ERCP的治疗使得这些儿童避免了行胰十二指肠切除术.

3.2 手术治疗 胰腺创伤的患者如果存在急性腹膜炎、腹部创伤超声重点评估法(focused assessment of sonography for trauma, FAST)阳性或严重胰管中断, 则需要急诊手术治疗^[1,28]. 许多的患者会合并包括血管损伤在内的其他脏器损伤, 这往往也是早期引起死亡的原因^[35-37]. 手术处理胰腺创伤的中心原则为: 控制活动性出血、其他脏器复合伤的处理、胰腺周围坏死组织清创、胰腺周围充分引流.

不伴有胰管损伤的胰腺创伤和浅表的胰腺撕裂伤(AAST, I级), 如果患者的血流动力学正常可以不进行清创引流处理^[38,39]. 没有胰管断裂的深部胰腺组织损伤(II级), 手术治疗只需要简单清创, 再行封闭负压引流. 术中应仔细检查有无胰管断裂伤, 缝合时不宜对胰腺被膜进行修补, 防止胰腺假性囊肿的形成.

胰腺创伤的处理也取决于损伤所在的位置. 远端损伤(III级), 定义为损伤发生于肠系膜上静脉左侧, 胰体或尾部断裂伤, 有大胰管损伤. 是否保留脾脏是手术治疗此级创伤性胰腺损伤的中心问题. 决定是保留脾脏的全部或一部分, 是根据患者的血流动力学情况和年龄决定的. 儿童是保留脾脏的首选. 肠系膜上静脉右侧的胰腺近端损伤(IV级)是很棘手的问题. 胰腺远端切除有可能损失约80%的胰腺组织. 这可能导致高达50%的患者术后血糖增高^[11]. 即使没有十二指肠的损伤, 这两类损伤无论使用空肠近端胰肠吻合术或者空肠远端胰肠吻合术都应该广泛的清创引流. 胰管的损伤可以通过奥迪括约肌切开或ERCP置入支架管来治疗^[11].

严重的胰头损伤(V级)通常会伴有十二指肠合并伤. 在患者全身状态允许手术时, 应及早的实施重建手术. 其中10%的患者需要实施胰十二指肠切除术, 但是此术式术后的并发症较多, 围手术期死亡率在30%到40%之间^[40,41]. 如患者伤势较重, 全身状态差时, 应先积极急性创伤控制, 再行损伤部位切除和重建^[42].

4 并发症

4.1 胰瘘 胰瘘是胰腺创伤后最常见的并发症, 在孤立的胰腺损伤中发生率达20%, 而有其他脏器复合损伤并胰腺损伤的发生率高达35%^[5]. CT是检查胰腺周围积液和引流情况的最佳方式. 胰瘘的处理方法与其他的消化系瘘的处理方法相似, 中心原则均为首先控制瘘管局部的感染, 再充分的引流瘘管和足够的营养支持. 经皮内镜下空肠造口术(percutaneous endoscopic jejunostomy, PEJ)是近年来兴起的一种新的肠内营养置管技术. 将肠内营养管置于Treitz韧带下约10 cm处尽可能地增加营养物质的吸收. 利用内镜处理已经破损或者狭窄的胰腺可提高保守治疗的效果. 90%以上的瘘口在8 wk左右可以自行关闭, 只有大约10%并发胰瘘的患者需要再次手术治疗^[43,44].

4.2 胰腺炎 创伤后胰腺炎现在尚未认定是一种胰管损伤后的并发症, 发生机制也可能与胰腺实质有关系. 经典的临床指征是, 血清淀粉酶水平升高、恶心、腹痛等. 有报道认为胰腺创伤后胰腺炎的发病率为17%^[43]. 大部分通过保守治疗可以自行消退. 反复发作的患者则需要ERCP或MRCP继续对胰胆管进行评价.

4.3 胰腺假性囊肿 胰腺创伤并发的假性囊肿的

■创新盘点

本文阐述了胰腺创伤不同分级的处理方法, 而且对创伤后并发症进行了讨论, 可以为临床医生在治疗方案上的选择提供相应的对比, 拓宽了临床医生的诊疗思路.

■应用要点

本文通过介绍不同分级胰腺创伤的诊断要点和治疗手段,治疗过程中并发症的处理,使临床医生对胰腺癌的非手术治疗有初步的认知。

治疗方法与非胰腺创伤类似。不管什么原因,近60%的胰腺假性囊肿会在6-8 wk自行消失。对胰腺假性囊肿的治疗主要取决于临床症状、囊肿的位置、大小和囊肿壁是否成熟^[45]。ERCP或MRCP可以用来确定假性囊肿是否与主胰管相联系。如果没有联系,可以在CT引导下经皮肤穿刺引流,或者直接行囊肿与胃后壁吻合或与空肠Roux-en-y吻合。当假性囊肿与主胰管相互联系时,可以通过内镜放置胰管支架管,再行囊肿引流术。大约90%的患者在内镜治疗下可以痊愈,并且复发率较低^[46]。

4.4 胰周脓肿 约有20%的胰腺创伤的患者会发生胰周脓肿^[5,43,47]。胰周脓肿一般都发生在高等级的胰腺创伤而且常同合并空腔脏器损伤,如结肠^[4,40,48]。通常应用经皮穿刺法将脓液抽出,很少需要手术治疗。

5 结论

尽管检查手段已经大为改进,但是临床上对待胰腺创伤应仍然保持谨慎。如果延误诊断,胰腺创伤的死亡率可到60%^[49,50]。当存在明显的胰腺创伤时手术处理是必要的,尤其当主胰管中断时必须进行紧急手术干预。通过提高了影像学检查的成像质量和ERCP的使用,孤立的胰腺创伤即使不经手术干预也可治愈。如何选择准确、适时地应用治疗方法仍然是值得探讨的一个话题。

6 参考文献

- Lin BC, Chen RJ, Fang JF, Hsu YP, Kao YC, Kao JL. Management of blunt major pancreatic injury. *J Trauma* 2004; 56: 774-778 [PMID: 15187740 DOI: 10.1097/01.TA.0000087644.90727.DF]
- Wind P, Turet E, Cunningham C, Frileux P, Cugnenc PH, Parc R. Contribution of endoscopic retrograde pancreatography in management of complications following distal pancreatic trauma. *Am Surg* 1999; 65: 777-783 [PMID: 10432091]
- Wolf A, Bernhardt J, Patrzyk M, Heidecke CD. The value of endoscopic diagnosis and the treatment of pancreas injuries following blunt abdominal trauma. *Surg Endosc* 2005; 19: 665-669 [PMID: 15759197 DOI: 10.1007/s00464-003-9276-5]
- Tyburski JG, Dente CJ, Wilson RF, Shanti C, Steffes CP, Carlin A. Infectious complications following duodenal and/or pancreatic trauma. *Am Surg* 2001; 67: 227-230; discussion 230-231 [PMID: 11270879]
- Patton JH, Lyden SP, Croce MA, Pritchard FE, Minard G, Kudsk KA, Fabian TC. Pancreatic trauma: a simplified management guideline. *J Trauma* 1997; 43: 234-239; discussion 234-239 [PMID: 9291366]
- Cirillo RL, Koniaris LG. Detecting blunt pancreatic injuries. *J Gastrointest Surg* 2002; 6: 587-598 [PMID: 12127126 DOI: 10.1016/S1091-255X(01)00028-2]
- Gupta A, Stuhlfaut JW, Fleming KW, Lucey BC, Soto JA. Blunt trauma of the pancreas and biliary tract: a multimodality imaging approach to diagnosis. *Radiographics* 2004; 24: 1381-1395 [PMID: 15371615 DOI: 10.1148/rg.245045002]
- Ignjatović D, Ignjatović M, Jevtić M. [Indirect blast rupture of the pancreas with a primary unperforated blast injury of the duodenum]. *Vojnosanit Pregl* 2006; 63: 177-179 [PMID: 16502994 DOI: 10.2298/VSP0602177I]
- Venkatesh SK, Wan JM. CT of blunt pancreatic trauma: a pictorial essay. *Eur J Radiol* 2008; 67: 311-320 [PMID: 17709222 DOI: 10.1016/j.ejrad.2007.07.003]
- Moore EE, Cogbill TH, Malangoni MA, Jurkovich GJ, Champion HR, Gennarelli TA, McAninch JW, Pachter HL, Shackford SR, Trafton PG. Organ injury scaling, II: Pancreas, duodenum, small bowel, colon, and rectum. *J Trauma* 1990; 30: 1427-1429 [PMID: 2231822 DOI: 10.1097/00005373-199011000-00035]
- Jones RC. Management of pancreatic trauma. *Am J Surg* 1985; 150: 698-704 [PMID: 4073362 DOI: 10.1016/0002-9610(85)90412-X]
- Ilahi O, Bochicchio GV, Scalea TM. Efficacy of computed tomography in the diagnosis of pancreatic injury in adult blunt trauma patients: a single-institutional study. *Am Surg* 2002; 68: 704-707; discussion 704-707 [PMID: 12206605]
- Takishima T, Sugimoto K, Hirata M, Asari Y, Ohwada T, Kakita A. Serum amylase level on admission in the diagnosis of blunt injury to the pancreas: its significance and limitations. *Ann Surg* 1997; 226: 70-76 [PMID: 9242340 DOI: 10.1097/0000-0658-199707000-00010]
- Udekwa PO, Gurkin B, Oller DW. The use of computed tomography in blunt abdominal injuries. *Am Surg* 1996; 62: 56-59 [PMID: 8540647]
- Lin BC, Liu NJ, Fang JF, Kao YC. Long-term results of endoscopic stent in the management of blunt major pancreatic duct injury. *Surg Endosc* 2006; 20: 1551-1555 [PMID: 16897285 DOI: 10.1007/s00464-005-0807-0]
- Patel SV, Spencer JA, el-Hasani S, Sheridan MB. Imaging of pancreatic trauma. *Br J Radiol* 1998; 71: 985-990 [PMID: 10195019]
- Al-Ahmadi K, Ahmed N. Outcomes after pancreatic trauma: experience at a single institution. *Can J Surg* 2008; 51: 118-124 [PMID: 18377752]
- Wong YC, Wang LJ, Fang JF, Lin BC, Ng CJ, Chen RJ. Multidetector-row computed tomography (CT) of blunt pancreatic injuries: can contrast-enhanced multiphasic CT detect pancreatic duct injuries? *J Trauma* 2008; 64: 666-672 [PMID: 18332806 DOI: 10.1097/TA.0b013e31802c5ba0]
- Akhraas R, Kim K, Brandt C. Computed tomography: an unreliable indicator of pancreatic trauma. *Am Surg* 1996; 62: 647-651 [PMID: 8712562]
- Phelan HA, Velmahos GC, Jurkovich GJ, Friese RS, Minei JP, Menaker JA, Philp A, Evans HL, Gunn ML, Eastman AL, Rowell SE, Allison CE, Barbosa RL, Norwood SH, Tabbara M, Dente CJ, Carrick MM, Wall MJ, Feeney J, O'Neill PJ, Srinivas G, Brown CV, Reifsnnyder AC, Hassan MO, Albert S, Pascual JL, Strong M, Moore FO, Spain DA, Purtill MA, Edwards B, Strauss J, Durham RM, Duchesne JC, Greiffenstein P, Cothren CC.

- An evaluation of multidetector computed tomography in detecting pancreatic injury: results of a multicenter AAST study. *J Trauma* 2009; 66: 641-646; discussion 641-646 [PMID: 19276732 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181991a0e]
- 21 Soto JA, Alvarez O, Múnera F, Yepes NL, Sepúlveda ME, Pérez JM. Traumatic disruption of the pancreatic duct: diagnosis with MR pancreatography. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 176: 175-178 [PMID: 11133562 DOI: 10.2214/ajr.176.1.1760175]
 - 22 Ragozzino A, Manfredi R, Scaglione M, De Ritis R, Romano S, Rotondo A. The use of MRCP in the detection of pancreatic injuries after blunt trauma. *Emerg Radiol* 2003; 10: 14-18 [PMID: 15290524 DOI: 10.1007/s10140-003-0278-3]
 - 23 Rekhi S, Anderson SW, Rhea JT, Soto JA. Imaging of blunt pancreatic trauma. *Emerg Radiol* 2010; 17: 13-19 [PMID: 19396480 DOI: 10.1007/s10140-009-0811-0]
 - 24 Gillams AR, Kurzwinski T, Lees WR. Diagnosis of duct disruption and assessment of pancreatic leak with dynamic secretin-stimulated MR cholangiopancreatography. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186: 499-506 [PMID: 16423959 DOI: 10.2214/AJR.04.1775]
 - 25 Chinnery GE, Madiba TE. Pancreaticoduodenal injuries: re-evaluating current management approaches. *S Afr J Surg* 2010; 48: 10-14 [PMID: 20496818]
 - 26 Hikida S, Sakamoto T, Higaki K, Hata H, Maeshiro K, Yamauchi K, Kimura YN, Egawa N, Mizote H, Shirouzu K. Intraoperative ultrasonography is useful for diagnosing pancreatic duct injury and adjacent tissue damage in a patient with penetrating pancreas trauma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11: 272-275 [PMID: 15368113 DOI: 10.1007/s00534-003-0874-3]
 - 27 Rogers SJ, Cello JP, Schecter WP. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with pancreatic trauma. *J Trauma* 2010; 68: 538-544 [PMID: 20016385 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181b5db7a]
 - 28 Buccimazza I, Thomson SR, Anderson F, Naidoo NM, Clarke DL. Isolated main pancreatic duct injuries spectrum and management. *Am J Surg* 2006; 191: 448-452 [PMID: 16531134 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2005.11.015]
 - 29 Leva E, Huscher C, Rode H, Fava G, Napolitano M, Maestri L, Pansini A, Cocozza E, Numanoglu A, Prada A, Sortino G, Pansini L. Management of traumatic complete pancreatic fracture in a child: case report and review of literature. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2008; 18: 321-323 [PMID: 18373468 DOI: 10.1089/lap.2007.0103]
 - 30 Mattix KD, Tataria M, Holmes J, Kristoffersen K, Brown R, Groner J, Scaife E, Mooney D, Nance M, Scherer L. Pediatric pancreatic trauma: predictors of nonoperative management failure and associated outcomes. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 340-344 [PMID: 17270545 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2006.10.006]
 - 31 Shilyansky J, Sena LM, Kreller M, Chait P, Babyn PS, Filler RM, Pearl RH. Nonoperative management of pancreatic injuries in children. *J Pediatr Surg* 1998; 33: 343-349 [PMID: 9498414 DOI: 10.1016/S0022-3468(98)90459-6]
 - 32 Loungnarath R, Blanchard H, Saint-Vil D. [Blunt injuries of the pancreas in children]. *Ann Chir* 2001; 126: 992-995 [PMID: 11803637 DOI: 10.1016/S0003-3944(01)00639-3]
 - 33 Wood JH, Partrick DA, Bruny JL, Sauaia A, Moulton SL. Operative vs nonoperative management of blunt pancreatic trauma in children. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 401-406 [PMID: 20152361 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2009.10.095]
 - 34 Houben CH, Ade-Ajayi N, Patel S, Kane P, Karani J, Devlin J, Harrison P, Davenport M. Traumatic pancreatic duct injury in children: minimally invasive approach to management. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 629-635 [PMID: 17448757 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2006.12.025]
 - 35 Bradley EL, Young PR, Chang MC, Allen JE, Baker CC, Meredith W, Reed L, Thomason M. Diagnosis and initial management of blunt pancreatic trauma: guidelines from a multiinstitutional review. *Ann Surg* 1998; 227: 861-869 [PMID: 9637549 DOI: 10.1097/00000658-199806000-00009]
 - 36 Stawicki SP, Schwab CW. Pancreatic trauma: demographics, diagnosis, and management. *Am Surg* 2008; 74: 1133-1145 [PMID: 19097525]
 - 37 Recinos G, DuBose JJ, Teixeira PG, Inaba K, Demetriades D. Local complications following pancreatic trauma. *Injury* 2009; 40: 516-520 [PMID: 19111300 DOI: 10.1016/j.injury.2008.06.026]
 - 38 Subramanian A, Dente CJ, Feliciano DV. The management of pancreatic trauma in the modern era. *Surg Clin North Am* 2007; 87: 1515-1532, x [PMID: 18053845 DOI: 10.1016/j.suc.2007.08.007]
 - 39 Cushman JG, Feliciano DV, Renz BM, Ingram WL, Ansley JD, Clark WS, Rozycki GS. Iliac vessel injury: operative physiology related to outcome. *J Trauma* 1997; 42: 1033-1040 [PMID: 9210537 DOI: 10.1097/00005373-199706000-00008]
 - 40 Vasquez JC, Coimbra R, Hoyt DB, Fortlage D. Management of penetrating pancreatic trauma: an 11-year experience of a level-1 trauma center. *Injury* 2001; 32: 753-759 [PMID: 11754881 DOI: 10.1016/S0020-1383(01)00099-7]
 - 41 Asensio JA, Petrone P, Roldán G, Kuncir E, Demetriades D. Pancreaticoduodenectomy: a rare procedure for the management of complex pancreaticoduodenal injuries. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 937-942 [PMID: 14644281 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2003.07.019]
 - 42 Lopez PP, Benjamin R, Cockburn M, Amortegui JD, Schulman CI, Soffer D, Blackburne LH, Habib F, Jerokhimov I, Trankel S, Cohn SM. Recent trends in the management of combined pancreatoduodenal injuries. *Am Surg* 2005; 71: 847-852 [PMID: 16468533]
 - 43 Fleming WR, Collier NA, Banting SW. Pancreatic trauma: Universities of Melbourne HPB Group. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 357-362 [PMID: 10353551 DOI: 10.1046/j.1440-1622.1999.01572.x]
 - 44 Vassiliu P, Toutouzas KG, Velmahos GC. A prospective study of post-traumatic biliary and pancreatic fistuli. The role of expectant management. *Injury* 2004; 35: 223-227 [PMID: 15124786]
 - 45 Beckingham IJ, Krige JE, Bornman PC, Terblanche J. Long term outcome of endoscopic drainage of pancreatic pseudocysts. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 71-74 [PMID: 9934733 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.00773.x]
 - 46 Coelho DE, Ardengh JC, Carballo MT, de Lima-Filho ER, Baron TH, Coelho JF. Clinicopathologic characteristics and endoscopic treatment of post-traumatic pancreatic pseudocysts. *Pancreas*

同行评价

本文逻辑性较强, 条理清晰, 概括较为全面, 具有较重要的临床指导意义和较高的科学价值。

- 2011; 40: 469-473 [PMID: 21343833 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31820bf898]
- 47 Oláh A, Issekutz A, Haulik L, Makay R. Pancreatic transection from blunt abdominal trauma: early versus delayed diagnosis and surgical management. *Dig Surg* 2003; 20: 408-414 [PMID: 12900531 DOI: 10.1159/000072708]
- 48 Rickard MJ, Brohi K, Bautz PC. Pancreatic and duodenal injuries: keep it simple. *ANZ J Surg* 2005; 75: 581-586 [PMID: 15972052 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2005.03351.x]
- 49 Toro A, Cavallaro A, Mannino M, Cappello G, Politi A, Di Carlo I. Pancreatic injury in a blunt abdominal trauma treated by a conservative approach with Tachosil®. *Minerva Chir* 2012; 67: 461-463 [PMID: 23232487]
- 50 Haugaard MV, Penninga L, Ifaoui IB, Qvist N, Wettergren A. [Pancreatic trauma in children--operative versus non-operative treatment]. *Ugeskr Laeger* 2012; 174: 115-119 [PMID: 22248845]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

心理因素在溃疡性结肠炎中的作用及机制

张云云, 王志荣

张云云, 王志荣, 同济大学医学院附属同济医院消化内科 上海市 210000

张云云, 硕士研究生, 主要从事溃疡性结肠炎及胃癌的相关研究.
作者贡献分布: 本综述由张云云完成; 王志荣负责审核.

通讯作者: 王志荣, 教授, 主任医师, 210000, 上海市普陀区新村路398号, 同济大学医学院附属同济医院消化内科.

wzr62@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-04-24 修回日期: 2013-05-20

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Role of psychological factors in pathogenesis of ulcerative colitis

Yun-Yun Zhang, Zhi-Rong Wang

Yun-Yun Zhang, Zhi-Rong Wang, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 210000, China

Correspondence to: Zhi-Rong Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, 398 Xincun Road, Putuo District, Shanghai 210000, China. wzr62@yahoo.com.cn

Received: 2013-04-24 Revised: 2013-05-20

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of the colon of unknown etiology. Multiple factors induce the occurrence and development of UC. Among these factors, psychological factors play an important role. As psychoneuro-immunology concept is gradually being accepted, it is currently believed that emotion can affect immune function through the nervous system. Recent studies suggest that psychological stress can be involved in alterations in intestinal inflammation by changing brain-gut axis function, exciting vegetative nerve, releasing neurotransmitters and altering bacterial-mucosal interactions. This paper reviews recent advances in understanding the role of psychological factors in the pathogenesis of UC and emphasizes the ways for the development of therapeutic psychological interventions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Psychological factors; Ulcerative colitis; Mechanism

Zhang YY, Wang ZR. Role of psychological factors in pathogenesis of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1823-1827 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1823.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1823>

摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种直肠及结肠慢性炎症性疾病, 目前病因尚未明确, 现认为多种因素参与了UC的发生及发展, 其中心理因素起了重要作用. 随着心理神经免疫学的概念逐渐被接受, 目前认为情绪可通过神经系统来影响人体免疫功能. 有研究表明, 心理应激可能通过改变脑-肠轴功能、兴奋植物神经、促进神经递质释放及改变细菌黏膜交互作用等途径参与肠道炎症的发生发展. 本文综述了近年来心理因素在UC中的作用及机制, 并为心理干预治疗的研究做好铺垫.

© 2013版权归Baishideng所有.

关键词: 心理因素; 溃疡性结肠炎; 机制

核心提示: 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因未明的结肠慢性炎症性疾病. 众多研究表明心理因素与UC相关, 并通过调节脑-肠轴、植物神经、神经递质的释放、细菌和黏膜交互作用等参与UC的发生及发展.

张云云, 王志荣. 心理因素在溃疡性结肠炎中的作用及机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(19): 1823-1827 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1823.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1823>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种反复发作的慢性非特异性结肠炎性疾病, 病变主要在大肠黏膜及黏膜下层, 以腹泻、腹痛、黏液血便为主要临床特征. 其病程长, 反复发作, 难根治, 长期不愈者有癌变的可能. 该病在西方国家常见, 欧洲和北美的患病率达79-268/10⁵, 我国目前缺乏相关的确切资料, 但近年报道的病例明显增多, 已成为我国消化系统常见疾病. 目

■背景资料

目前溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)在我国发病率逐年增高, 已成为我国消化系统常见疾病. 该病目前病因及机制尚未明确, 使得UC的预防及治疗比较棘手. 目前认为UC的发病除与感染、遗传、免疫有关外, 可能还与精神因素相关, 研究精神因素在UC中的作用及机制, 可为UC的治疗提供新的治疗靶点.

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

■研究前沿
精神因素在UC中的作用目前尚有争议,对其机制的探讨成为近年来研究的热点。

前UC病因及机制尚未明确,多数学者认为与感染、遗传、免疫相关,另外近年大量研究表明UC的发病可能还与精神因素有关^[1]。已有研究证实,心理因素在心脑血管病、内分泌疾病和神经精神疾病的发生中起了重要作用^[2-4],而其在UC中的作用机制目前尚有争议。因此,本文对心理因素影响UC的作用机制进行综述,以期对心理因素作为UC治疗靶点的研究做好铺垫。

1 UC与心理因素相关

精神心理障碍可以引起胃肠道功能紊乱,除已知的肠易激综合征、功能性消化不良与心理因素密切相关外^[5,6],有研究发现约74%的UC患者的疾病进程与精神心理因素有关^[7,8]。临床观察研究发现UC患者存在多种心理健康问题,但以不同程度焦虑、抑郁最为常见,且焦虑、抑郁的发生率高于其他慢性疾病及正常人群^[9-11]。有学者认为焦虑及抑郁与UC的诱发、活动、复发及恶化有关,同时也可以作为UC反复发作后的继发表现^[12,13]。另外很多UC缓解期患者常可同时并存不同程度的肠易激综合征样症状,这些患者普遍存在焦虑和抑郁等心理异常^[14]。Triantafyllidis等^[15]研究发现,精神心理因素与UC病情程度有关,其中焦虑和抑郁情绪是影响治疗恢复的最大障碍。Timmer等^[16]和Bryant等^[17]发现同时治疗UC疾病本身及并发的心理障碍可以明显改善病情,提高患者的生活质量。目前对于心理因素与UC的因果顺序尚无定论,但心理因素对UC的影响是肯定的。

2 心理因素影响UC的机制

心理因素影响UC的疾病进程,这在众多研究中得到证实,但其作用机制尚未明确。1981年美国心理学家Robert Adert提出心理神经免疫学的概念,认为心理、神经、免疫系统之间相互关联,免疫系统和大脑通过交互作用可影响健康。目前认为情绪可通过神经系统影响人体系统免疫及胃肠黏膜免疫功能。结合大量文献分析,精神心理因素可能是通过改变脑-肠轴功能、兴奋植物神经系统、促进多种神经递质释放及增加免疫细胞活性、改变细菌和黏膜交互作用等途径导致UC的发生及发展^[18]。

2.1 脑-肠轴以及脑-肠互动理论 神经系统对胃肠道的调节包括:肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的局部调控;中枢神经系统(central nervous system, CNS)整合内外环境变化时传入

的各种信息,经植物神经系统以及神经-内分泌-免疫网络作用于ENS或直接作用于肠效应器;椎前神经节接受和调控来自ENS和CNS两方面的信息。这种将胃肠道和CNS在不同层面上联结在一起的神经-内分泌网络称为脑-肠轴,其间发生的信息交流则称为脑-肠互动^[19]。脑-肠轴通过信息的双向传递将胃肠道功能与中枢的情感认知联系起来。外部及内部的感受信息可影响胃肠道感觉、运动、分泌和炎症,胃肠道的信息也能影响行为及情绪^[20]。

精神因素通过脑-肠轴上神经-内分泌-免疫网络的调节,影响UC。焦虑、抑郁等负面情绪可能引起人体中枢神经系统、免疫系统及内分泌系统的生理变化,在中枢神经系统的直接或间接影响下,通过自主神经系统及肠神经系统来调节消化系统的运动、分泌功能^[21]。而杏仁核是脑-肠轴的核心结构,在情绪应激时起最基础的神经调节作用,最近有研究发现UC患者杏仁核的血氧水平依赖信号明显下降,提示UC与心理因素有关,而杏仁核的功能障碍影响UC病情发展^[22,23]。

2.2 植物神经紊乱 精神因素与消化系的关系密切,长期持续的心理精神障碍可使植物神经功能紊乱。精神状态的变化能影响胃肠道黏膜和肝脏等的血流动力学和分泌,也能引起胃肠道运动功能的变化,导致肠平滑肌和血管痉挛,局部组织营养障碍、肠黏膜抵抗力下降,这是形成炎症、溃疡的基础^[24]。情绪对结肠功能的影响表现为:失望、抑郁等消沉情绪可使结肠推进性蠕动增强、黏液分泌增加,非推进性收缩减弱,出现腹泻;焦虑、愤怒等对抗性情绪可使结肠收缩增强,蠕动减弱,可致肠痉挛、便秘。Barreau等^[25]发现负面情绪可兴奋副交感神经,使肠道的运动和分泌出现失调,导致肠黏膜脆性增加,削弱和破坏肠黏膜的防御功能而出现相应的病理生理改变。

2.3 神经递质及相关免疫细胞 现公认与精神心理活动有关的神经递质包括5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropinreleasing factor, CRF)、多巴胺(dopamine, DA)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)等^[26-29],相应的神经递质的合成、分泌、贮藏等均与精神心理因素具有一定的联系^[30]。而免疫细胞中,肠嗜铬细胞、巨细胞、肥大细胞等参与介导神经系统与UC之间的信号传导,从而参与UC的发病^[31]。

5-HT及其受体被认为是与焦虑、抑郁症状关系较为密切的单胺类物质^[32]。焦虑、抑郁状态可使5-HT分泌增加,且焦虑、抑郁评分与5-HT成正相关^[33]。而5-HT增加,可使神经细胞突触前膜对5-HT再摄取的增多,5-HT到达突触后膜与相应受体结合,临床上即出现焦虑、抑郁症状^[33]。目前针对不同5-HT受体亚型产生的选择性5-HT再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)已成为治疗焦虑、抑郁障碍的主要药物^[34]。另外,5-HT是一种重要的脑肠肽,广泛存在于中枢神经系统、胃肠道,与不同受体结合参与调节肠道运动及敏感性、平滑肌收缩、痛觉传导、神经递质的释放,与UC的肠道功能性症状相关^[35]。同时5-HT也是一种免疫调节因子,与位于T淋巴细胞、B淋巴细胞、单核细胞、NK细胞等免疫细胞表面上的5-HT受体结合,诱导产生第二信使,对免疫系统起调节作用^[36]。在UC免疫反应中T细胞占重要地位,5-HT可促进T细胞的增殖,调节T细胞功能,并分泌白介素(interleukin, IL-6)、IL-12、IL-2、IFN- γ 等细胞因子,而所分泌的细胞因子反过来影响肠神经系统,可见免疫细胞与肠神经系统的双向调节在UC的发展中起重要作用^[37-39]。故推测精神心理因素是通过影响5-HT的分泌,来调节中枢、胃肠、免疫系统,从而参与UC的疾病进展。

CRF是由41个氨基酸组成的多肽,在中枢神经系统主要由下丘脑室旁核(paraventricular nucleus of hypothalamus, PVN)分泌,在下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)的神经内分泌调节过程中起关键作用^[40]。精神心理应激兴奋大脑皮质,再通过边缘系统和网状结构兴奋下丘脑释放CRF^[41]。实验发现,有焦虑、抑郁等心理异常的动物,PVN及中央杏仁核等脑区CRF的mRNA表达增加,而脑室中注入外源性CRF与其受体结合,可引起焦虑等心理异常反应^[42]。应激引起的小鼠焦虑样反应主要由CRF1受体介导,在非应激情况下PVN区的CRF1受体mRNA无表达,心理应激情况下CRF1受体表达明显升高,CRF是CRF1受体的诱导剂,心理应激时CRF升高,从而引起CRF1受体升高^[43]。中枢过表达CRF1受体基因小鼠可表现焦虑样行为,封闭CRF1受体的小鼠焦虑程度降低^[44]。实验证实,心理因素影响UC,是通过CRF的释放使糖皮质激素、儿茶酚胺的等激素释放增加,并使肥大细胞数量增多及活性增强,从而抑制免疫功能、增加肠黏膜通透性、削弱肠道屏障作

用、增加结肠能动性和敏感性、使肠道菌群失调或移位、增加炎症介质释放,这一系列反应导致肠道炎症,促进了UC的发生发展^[45,46]。

2.4 细菌和黏膜交互作用 近年微生物致病观点日益受到重视,目前大量实验及临床分析显示,肠道菌群参与UC的发病^[47,48]。正常肠道黏膜对肠道正常菌群处于免疫耐受状态^[49]。而焦虑及抑郁等负性情绪通过兴奋副交感神经、增加神经递质分泌、增加免疫细胞活动,使肠道正常的屏障作用减弱,肠内菌群失调移位^[50,51]。肠腔内环境改变,特别是肠内菌群的改变可能作为抗原刺激肠上皮细胞,改变黏膜的通透性并对黏膜的免疫系统造成影响,在肠道炎症过程中产生重要作用^[52,53]。

3 结论

UC是一种心身疾病,实验证实心理因素在UC的发生、发展中起着重要的作用。进一步研究心理因素在UC中的作用及机制,为UC提出了新的治疗靶点,将有利于UC患者控制病情、改善生活质量。

4 参考文献

- 1 Qin X. Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1708-1722 [PMID: 22553395 DOI: 10.3748/wjg.v18.i15.1708]
- 2 Cohen BE, Panguluri P, Na B, Whooley MA. Psychological risk factors and the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. *Psychiatry Res* 2010; 175: 133-137 [PMID: 19969373 DOI: 10.1016/j.psychres.2009.02.004]
- 3 Ridge K, Bartlett J, Cheah Y, Thomas S, Lawrence-Smith G, Winkley K, Ismail K. Do the effects of psychological treatments on improving glycemic control in type 1 diabetes persist over time? A long-term follow-up of a randomized controlled trial. *Psychosom Med* 2012; 74: 319-323 [PMID: 22434919 DOI: 10.1097/PSY.0b013e31824c181b]
- 4 Halász P, Cramer JA, Hodoba D, Członkowska A, Guekht A, Maia J, Elger C, Almeida L, Soares-da-Silva P. Long-term efficacy and safety of eslicarbazepine acetate: results of a 1-year open-label extension study in partial-onset seizures in adults with epilepsy. *Epilepsia* 2010; 51: 1963-1969 [PMID: 20662896 DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02664.x]
- 5 Tang YR, Yang WW, Wang YL, Lin L. Sex differences in the symptoms and psychological factors that influence quality of life in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 702-707 [PMID: 22382707 DOI: 10.1097/MEG.0b013e31828351b2c2]
- 6 Bjermer L. Montelukast in the treatment of asthma as a systemic disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2005; 1: 325-336 [PMID: 20476984 DOI: 10.1097/

■ 相关报道

大量研究资料表明,心理因素与UC相关,并通过调节脑-肠轴、植物神经、神经递质的释放、细菌和黏膜等参与UC的发生及发展。

■创新盘点

本文叙述心理因素在UC中的作用,并进一步着重深入探讨其机制,进而发现心理因素在UC中的研究及应用价值。

- 7 Schoultz M. The role of psychological factors in inflammatory bowel disease. *Br J Community Nurs* 2012; 17: 370-374 [PMID: 22875212]
- 8 de Ridder D, Geenen R, Kuijter R, van Middelburg H. Psychological adjustment to chronic disease. *Lancet* 2008; 372: 246-255 [PMID: 18640461 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61078-8]
- 9 程文芳, 施瑞华. 溃疡性结肠炎患者心理特征的研究. *胃肠病学和肝病杂志* 2007; 16: 437-439
- 10 Graff LA, Walker JR, Clara I, Lix L, Miller N, Rogala L, Rawsthorne P, Bernstein CN. Stress coping, distress, and health perceptions in inflammatory bowel disease and community controls. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2959-2969 [PMID: 19755973 DOI: 10.1038/ajg.2009.529]
- 11 Häuser W, Janke KH, Klump B, Hinz A. Anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease: comparisons with chronic liver disease patients and the general population. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 621-632 [PMID: 20848528 DOI: 10.1002/ibd.21346]
- 12 Blickman JG, van Die CE, de Rooy JW. Current imaging concepts in pediatric osteomyelitis. *Eur Radiol* 2004; 14 Suppl 4: L55-L64 [PMID: 14752569]
- 13 Hauser G, Tkalcic M, Stimac D, Milić S, Sincić BM. Gender related differences in quality of life and affective status in patients with inflammatory bowel disease. *Coll Antropol* 2011; 35 Suppl 2: 203-207 [PMID: 22220436]
- 14 王再见, 欧阳钦, 陈怀恭, 刘传新. 43例溃疡性结肠炎患者中肠易激样综合征的精神心理因素分析. *临床内科杂志* 2005; 22: 180-182
- 15 Triantafyllidis JK, Merikas E, Gikas A. Psychological factors and stress in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 225-238 [PMID: 23445232 DOI: 10.1586/egh.13.4]
- 16 Timmer A, Preiss JC, Motschall E, Rücker G, Jantschek G, Moser G. Psychological interventions for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (2): CD006913 [PMID: 21328288 DOI: 10.1002/14651858]
- 17 Bryant RV, van Langenberg DR, Holtmann GJ, Andrews JM. Functional gastrointestinal disorders in inflammatory bowel disease: impact on quality of life and psychological status. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 916-923 [PMID: 21214889 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06624.x]
- 18 Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut* 2005; 54: 1481-1491 [PMID: 16162953]
- 19 Ko JK, Cho CH. Adaptive cytoprotection and the brain-gut axis. *Digestion* 2011; 83 Suppl 1: 19-24 [PMID: 21389724 DOI: 10.1159/000323400]
- 20 Whitehouse HJ, Ford AC. Direction of the brain-gut pathway in functional gastrointestinal disorders. *Gut* 2012; 61: 1368 [PMID: 22387527 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302228]
- 21 袁川平, 王伟, 柳巨雄. 神经-内分泌-免疫网络与炎症性肠病. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2024-2028
- 22 Agostini A, Filippini N, Cevolani D, Agati R, Leoni C, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Leonardi M, Campieri M. Brain functional changes in patients with ulcerative colitis: a functional magnetic resonance imaging study on emotional processing. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1769-1777 [PMID: 21744432 DOI: 10.1002/ibd.21549]
- 23 Tsurugizawa T, Uematsu A, Nakamura E, Hasumura M, Hirota M, Kondoh T, Uneyama H, Torii K. Mechanisms of neural response to gastrointestinal nutritive stimuli: the gut-brain axis. *Gastroenterology* 2009; 137: 262-273 [PMID: 19248781 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.057]
- 24 Lazebnik LB, Lychkova AE, Khomeriki SG. [Characteristics of neurohumoral regulation of stomach in aging]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2010; (12): 73-77 [PMID: 21560626]
- 25 Barreau F, Ferrier L, Fioramonti J, Bueno L. Neonatal maternal deprivation triggers long term alterations in colonic epithelial barrier and mucosal immunity in rats. *Gut* 2004; 53: 501-506 [PMID: 15016743]
- 26 Karlsson H, Hirvonen J, Kajander J, Markkula J, Rasi-Hakala H, Salminen JK, Nägren K, Aalto S, Hietala J. Research letter: Psychotherapy increases brain serotonin 5-HT1A receptors in patients with major depressive disorder. *Psychol Med* 2010; 40: 523-528 [PMID: 19903365 DOI: 10.1017/S0033291709991607]
- 27 O'Malley D, Dinan TG, Cryan JF. Alterations in colonic corticotropin-releasing factor receptors in the maternally separated rat model of irritable bowel syndrome: differential effects of acute psychological and physical stressors. *Peptides* 2010; 31: 662-670 [PMID: 20096320 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.01.004]
- 28 Pritchard AL, Ratcliffe L, Sorour E, Haque S, Holder R, Bentham P, Lendon CL. Investigation of dopamine receptors in susceptibility to behavioural and psychological symptoms in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2009; 24: 1020-1025 [PMID: 19235789 DOI: 10.1002/gps.2214]
- 29 Aschbacher K, Mills PJ, von Känel R, Hong S, Mausbach BT, Roepke SK, Dimsdale JE, Patterson TL, Ziegler MG, Ancoli-Israel S, Grant I. Effects of depressive and anxious symptoms on norepinephrine and platelet P-selectin responses to acute psychological stress among elderly caregivers. *Brain Behav Immun* 2008; 22: 493-502 [PMID: 18054198]
- 30 Charlet K, Beck A, Heinz A. The dopamine system in mediating alcohol effects in humans. *Curr Top Behav Neurosci* 2013; 13: 461-488 [PMID: 21533679 DOI: 10.1007/7854_2011_130]
- 31 Brandtzaeg P, Carlsen HS, Halstensen TS. The B-cell system in inflammatory bowel disease. *Adv Exp Med Biol* 2006; 579: 149-167 [PMID: 16620017 DOI: 10.1007/0-387-33778-4_10]
- 32 Crockett MJ, Clark L, Lieberman MD, Tabibnia G, Robbins TW. Impulsive choice and altruistic punishment are correlated and increase in tandem with serotonin depletion. *Emotion* 2010; 10: 855-862 [PMID: 21171757 DOI: 10.1037/a0019861]
- 33 Miyata S, Yamada N, Hirano S, Tanaka S, Kamei J. Diabetes attenuates psychological stress-elicited 5-HT secretion in the prefrontal cortex but not in the amygdala of mice. *Brain Res* 2007; 1147: 233-239 [PMID: 17320057]
- 34 Faria V, Appel L, Åhs F, Linnman C, Pissioti A, Frans Ö, Bani M, Bettica P, Pich EM, Jacobsson E, Wahlstedt K, Fredrikson M, Furmark T. Amygdala subregions tied to SSRI and placebo response in patients with social anxiety disorder. *Neuropsychopharmacology* 2012; 37: 2222-2232 [PMID: 22617357 DOI: 10.1038/npp.2012.72]

- 35 Crowell MD, Wessinger SB. 5-HT and the brain-gut axis: opportunities for pharmacologic intervention. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16: 761-765 [PMID: 17501688 DOI: 10.1517/13543784.16.6.761]
- 36 Baganz NL, Blakely RD. A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin. *ACS Chem Neurosci* 2013; 4: 48-63 [PMID: 23336044 DOI: 10.1021/cn300186b]
- 37 Abdouh M, Storrington JM, Riad M, Paquette Y, Albert PR, Drobetsky E, Kouassi E. Transcriptional mechanisms for induction of 5-HT_{1A} receptor mRNA and protein in activated B and T lymphocytes. *J Biol Chem* 2001; 276: 4382-4388 [PMID: 11080494 DOI: 10.1074/jbc.M004559200]
- 38 Maul J, Zeitz M. Ulcerative colitis: immune function, tissue fibrosis and current therapeutic considerations. *Langenbecks Arch Surg* 2012; 397: 1-10 [PMID: 21479621 DOI: 10.1007/s00423-011-0789-4]
- 39 Lawrance IC. Modifying T-cell trafficking to the intestinal as a potential management for inflammatory bowel disease. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21: 975-984 [PMID: 22612537 DOI: 10.1517/13543784.2012.690030]
- 40 Lowery EG, Spanos M, Navarro M, Lyons AM, Hodge CW, Thiele TE. CRF-1 antagonist and CRF-2 agonist decrease binge-like ethanol drinking in C57BL/6J mice independent of the HPA axis. *Neuropsychopharmacology* 2010; 35: 1241-1252 [PMID: 20130533 DOI: 10.1038/npp.2009.209]
- 41 Iwasaki-Sekino A, Mano-Otagiri A, Ohata H, Yamauchi N, Shibasaki T. Gender differences in corticotropin and corticosterone secretion and corticotropin-releasing factor mRNA expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and the central nucleus of the amygdala in response to footshock stress or psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 226-237 [PMID: 18849120 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.09.003]
- 42 Carrasco J, Márquez C, Nadal R, Tobeña A, Fernández-Teruel A, Armario A. Characterization of central and peripheral components of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in the inbred Roman rat strains. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33: 437-445 [PMID: 18276081 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.01.001]
- 43 Johnson AC, Tran L, Schulkin J, Greenwood-Van Meerveld B. Importance of stress receptor-mediated mechanisms in the amygdala on visceral pain perception in an intrinsically anxious rat. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 479-486, e219 [PMID: 22364507 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01899.x]
- 44 Ganio MS, Overgaard M, Seifert T, Secher NH, Johansson PI, Meyer MA, Crandall CG. Effect of heat stress on cardiac output and systemic vascular conductance during simulated hemorrhage to presyncope in young men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302: H1756-H1761 [PMID: 22367508]
- 45 朱磊, 赵钢. 精神心理因素与溃疡性结肠炎的关系. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 868-870
- 46 Wallon C, Persborn M, Jönsson M, Wang A, Phan V, Lampinen M, Vicario M, Santos J, Sherman PM, Carlson M, Ericson AC, McKay DM, Söderholm JD. Eosinophils express muscarinic receptors and corticotropin-releasing factor to disrupt the mucosal barrier in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2011; 140: 1597-1607 [PMID: 21277851 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.042]
- 47 Rowan F, Docherty NG, Murphy M, Murphy TB, Coffey JC, O'Connell PR. Bacterial colonization of colonic crypt mucous gel and disease activity in ulcerative colitis. *Ann Surg* 2010; 252: 869-875 [PMID: 21037444 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181fdc54c]
- 48 Pineton de Chambrun GP, Torres J, Darfeuille-Michaud A, Colombel JF. The role of anti(myco)bacterial interventions in the management of IBD: is there evidence at all? *Dig Dis* 2012; 30: 358-367 [PMID: 22796797 DOI: 10.1159/000338126]
- 49 Do VT, Baird BG, Kockler DR. Probiotics for maintaining remission of ulcerative colitis in adults. *Ann Pharmacother* 2010; 44: 565-571 [PMID: 20124461 DOI: 10.1345/aph.1M498]
- 50 Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang PC, Ngan BY, McKay DM, Soderholm JD, Perdue MH, Sherman PM. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* 2006; 55: 1553-1560 [PMID: 16638791 DOI: 10.1136/gut.2005.080739]
- 51 Grover M, Kanazawa M, Palsson OS, Chitkara DK, Gangarosa LM, Drossman DA, Whitehead WE. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: association with colon motility, bowel symptoms, and psychological distress. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 998-1008 [PMID: 18482250 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01142.x]
- 52 白爱平, 欧阳钦, 吕农华. 炎症性肠病发病机制的新观点. *中华消化杂志* 2010; 30: 210-212
- 53 Gerseemann M, Stange EF, Wehkamp J. From intestinal stem cells to inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3198-3203 [PMID: 21912468 DOI: 10.3748/wjg.v17.i27.3198]

同行评价

研究心理因素在UC中的作用及机制, 可为UC治疗提出新的靶点, 对于控制UC患者病情、改善生活质量有所帮助。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



痔外剥内扎术后的解痉治疗

邓志灏, 赵宝明

■背景资料

疼痛是痔切除术后并发症之一, 增加了患者术后的痛苦且使病程延长, 严重影响了患者正常的工作和生活, 而肛门内括约肌的痉挛被认为是导致疼痛的主要原因之一, 故在术后常采取缓解内括约肌痉挛的方法来缓解疼痛。

邓志灏, 赵宝明, 北京中医药大学东直门医院肛肠科 北京市 100700

邓志灏, 北京中医药大学在读博士研究生, 主要从事中医药防治肛肠疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072812

作者贡献分布: 本文由邓志灏完成; 赵宝明负责审核。

通讯作者: 赵宝明, 教授, 100700, 北京市东城区海运仓5号, 北京中医药大学东直门医院肛肠科. zhaobaoming1951@126.com
电话: 010-84013137

收稿日期: 2013-02-19 修回日期: 2013-04-17

接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-07-08

Spasmolysis therapy after Milligan-Morgan haemorrhoidectomy

Zhi-Hao Deng, Bao-Ming Zhao

Zhi-Hao Deng, Bao-Ming Zhao, Department of Proctology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072812

Correspondence to: Bao-Ming Zhao, Professor, Department of Proctology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, 5 Haiyuncang, Dongchen District, Beijing 100700, China. zhaobaoming1951@126.com
Received: 2013-02-19 Revised: 2013-04-17

Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-07-08

Abstract

Pain after hemorrhoid surgery is the most common postoperative complication, significantly influencing patients' quality of life. Severe postoperative pain may still occur and continues to be the major concern of patients who are unwilling to undergo the surgery. Anal sphincter hypertonicity has been identified as a major influencing factor for increased pain after surgery. Since persistent internal anal sphincter spasm is a major factor responsible for the genesis of pain, relieving internal anal sphincter spasm is considered to be an effective method to ease the pain. Currently, multiple treatments have been used to manage pain after haemorrhoidal surgery, including sphincterotomy, botulinum toxin, glyceryl trinitrate, and calcium channel blockers. Haemorrhoidectomy coupled with spasmolysis therapy can significantly reduce the incidence of postoperative complications and

improve the quality of life.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Haemorrhoidectomy; Spasmolysis; Sphincterotomy

Deng ZH, Zhao BM. Spasmolysis therapy after Milligan-Morgan haemorrhoidectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1828-1833 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1828.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1828>

摘要

疼痛是痔术后最常见的并发症, 严重影响着患者的生活质量, 成为痔患者恐惧手术的最大原因。而内括约肌的痉挛被认为是引起肛门疼痛的一个主要原因。故缓解内括约肌的痉挛被认为是止痛的有效方法。现在临床上经常应用的并取得满意疗效的解痉治疗方法有: 手术治疗(如: 内括约肌切开术)与药物治疗(如: 肉毒毒素、硝酸甘油、钙离子通道阻滞剂)。痔切除术后配合解痉治疗, 能够显著减少术后并发症的发生, 提高患者的满意度, 改善患者术后的生活质量。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 痔切除术; 解痉治疗; 括约肌切开

核心提示: 内括约肌的痉挛是痔术后肛门疼痛的主要原因之一, 故痔切除术联合术后内括约肌的解痉治疗能够有效的缓解肛门疼痛, 提高患者满意度, 改善患者术后的生活质量。

邓志灏, 赵宝明. 痔外剥内扎术后的解痉治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1828-1833 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1828.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1828>

0 引言

痔切除术引起的肛门疼痛, 具体机制未明, 但被认为是多种因素共同作用的结果, 包括: 麻醉剂的使用^[1]、术中操作^[2]、术后炎症^[3]、继发感染^[4,5]及个

■同行评议者

李志霞, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院普外科; 王忠裕, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外科二科

人的疼痛阈值等, 但内括约肌的痉挛被认为是术后产生疼痛的主要原因之一^[6-8]. 对于术后缓解内括约肌痉挛的治疗一般采取的方式是括约肌切开, 包括化学性括约肌切开(chemical or pharmacological sphincterotomy, CS)和手术括约肌切开, 但是手术内括约肌切开可能导致肛周感染、出血等并发症, 从远期疗效来看, 像肛裂患者一样, 行括约肌切开术可能导致严重的并发症-肛门失禁. CS容易导致一些暂时性的不良反应, 如: 头晕、头痛、肛门瘙痒等, 所以如何在缓解术后肛门内括约肌痉挛的同时减少药物引起的不良反应并能最大程度地保留肛门内括约肌的功能就成为一个重要的研究课题. 本文对痔外剥内扎术后的解痉治疗进行综述.

1 痔

痔是直肠末端黏膜下和肛管皮下的静脉丛发生扩大曲张所形成的柔软静脉团或肛管下端皮下血栓形成或增生的结缔组织. 痔的发病机理至今未明, 但目前较为推崇的是肛垫下移学说. 肛垫是指黏膜下间隙内血管丰富的衬垫, 是肛管正常解剖结构的一部分, 分别位于肛管的左侧、右前和右后位置. 这些组织所产生的总压力占肛管静息压的15%-20%. 由于年龄、便秘、腹泻、妊娠、饮食、直立姿势等多种因素的影响, 导致支持正常肛垫组织的结缔组织和肌性组织发生退化, 固定和支持作用逐渐减弱, 发生下垂、脱出等症状, 从而导致痔的形成.

治疗痔的主要原则是无症状痔无需治疗, 有症状痔的治疗目的重在消除、减轻痔的主要症状而非根治^[9]. 解除痔的症状被视为评价治疗效果的标准. 痔的治疗方式多种多样, 包括药物治疗及外科手术治疗. 而对于III、IV度痔, 临床上主要以外科手术治疗为主. 一般有两种方式: 一是切除肛垫组织, 如: 痔外剥内扎术(milligan-morgan haemorrhoidectomy, MMH); 二是恢复肛垫的生理位置, 如: 吻合器痔固定术(stapled haemorrhoidopexy, SH).

2 术后并发症

自从人们应用手术治疗痔以来, 出现了许多临床研究去比较评价治疗III、IV度痔的治疗方式, 而且也出现了越来越多的手术方式: 用超声刀^[10]或LigaSure^[11]行痔切除术、超声多普勒引导下痔动脉结扎^[12,13]、SH^[14]. 随着手术方式的不断改进, 可能会缩短患者的手术时间、住院时间, 但患者

术后肛门疼痛、水肿等并发症仍然没有被很大程度上改善^[15,16], 有研究表明患者术后可能需要4-16 d的时间, 才能恢复正常的工作和生活, 这也是患者推迟就医、拒绝手术的原因之一.

现在, MMH仍然是治疗III、IV度痔应用最为广泛的手术方式, 由于术后切口多, 创面较大, 使部分内括约肌暴露, 而切口位于感觉神经末梢极为丰富的肛管及肛缘皮肤. 伤口直接刺激内括约肌, 使其发生痉挛, 使肛管压力升高, 导致血液、淋巴液回流受阻, 从而使术后疼痛、尿潴留、肛缘水肿、肛门狭窄等并发症的发生率增加. 有研究^[17,18]表明痔患者肛管静息压要高于正常人, 而术后某些因素的刺激又加剧了内括约肌痉挛的症状.

Pascual等^[6]通过直肠腔内超声发现肛门疼痛与内括约肌增厚有关. 肛缘水肿也与内括约肌的痉挛有关, 使穿越其间的血管受到挤压而加重血液回流障碍, 且组织液回流减少, 从而产生肛缘水肿. 内括约肌的持续痉挛也会导致尿道括约肌不能放松, 导致尿潴留, Toyonaga等^[19]研究表明痔切除术后配合内括约肌切开术能够显著降低尿潴留的发生率. 痔切除术也可引起肛门狭窄, 其主要原因有: 一是术中损伤肛管皮肤及黏膜, 产生的瘢痕缺乏弹性导致肛门狭窄; 二是由于术后内括约肌的痉挛, 使肛管处于持续高压状态, 而致肛门狭窄. 故术后缓解肛门内括约肌的痉挛能够有效的防止并发症的发生.

3 术后的解痉治疗

3.1 手术解痉 许多临床研究^[20-27]已经证明痔切除术联合内括约肌切开术, 能够显著缓解术后肛门疼痛, 并且对肛门自制功能无显著影响; 但是也有两项研究^[2,28]表明: 行内括约肌切开并不能缓解术后肛门疼痛, 产生这种结果的原因可能是: 其一, 与这两项研究术后观察时间太短有关(前者^[2]观察3 d, 后者^[28]观察4 d); 其二, 与内括约肌切开的过少有关; 其三, 术后止痛药物的使用影响了对疼痛的评价. 内括约肌切开术可能会影响肛门的自制功能, 但是研究结果确不尽相同: Diana等^[22]和Gravié等^[29]对内括约肌切开后肛门的自制功能进行了评价, 术后1 mo肛门对排气和稀便控制失禁分别为1.86%和8.80%; 术后6 mo分别为1.29%和8.80%; Hosseini等^[30]通过术后3 mo肛管测压及临床症状观察发现: MMH术后配合内括约肌切开, 并未对肛门的自制功能产生显著影响. 故Brown等^[31]指出人们对

■研究前沿

为了更好的预防和治疗痔术后肛门疼痛, 人们在不断探寻疼痛和肛门内括约肌痉挛的机制及其之间的联系, 而如何在缓解痔术后肛门内括约肌痉挛的同时减少药物引起的不良反应并能最大程度地保留肛门内括约肌的功能就成为一个重要的研究课题.

■相关报道

Ratnasingham等对痔切除术后应用硝酸甘油软膏的研究进行Meta分析,发现硝酸甘油软膏可以显著缓解疼痛,明显提高治愈率。Perrotti等通过研究发现:外剥内扎术后予0.3%硝苯地平软膏联合1.5%利多卡因软膏外用可以显著缓解术后疼痛。

内括约肌切开后所导致的肛门失禁担心过度。但术后1 wk有时仍会出现暂时性的排气失禁,鉴于此Hosseini提出MMH术后行内括约肌切开后,主要针对肛管直肠压力增高的患者,而不需要常规使用。由于内括约肌切开没有统一的标准,故术后的治疗效果参差不齐,并发症的发生率也各不相同。

3.2 药物解痉 化学性内括约肌切开药物在治疗肛裂方面应用较多^[32-34],但应用于痔切除术后研究较少。最常用的化学性内括约肌切开的药物为肉毒毒素(botulinum toxin, BT)、硝酸甘油(glyceryl trinitrate, GTN)、钙离子通道阻滞剂。

3.2.1 肉毒毒素: BT是一种肽链内切酶,他作用于肛周神经末梢神经肌肉接头,通过选择性多靶点的阻断乙酰胆碱的释放,可在数小时内引起肌肉轻度麻痹,缓解肛门内括约肌的痉挛。Patti等^[35]通过比较MMH配合内括约肌内注射生理盐水或20 IU的BT,发现:术后5 d BT组的最大肛管静息压、肛门疼痛评分显著低于生理盐水组,并能显著缩短患者的治愈时间。Davies等^[1]研究发现:MMH配合内括约肌内注射20 IU的BT,可显著缓解术后疼痛。Singh等^[36]观察MMH配合150 IU的BT注射,术后6 wk肛管最大静息压(maximal resting pressure, MRP)和最大收缩压(maximal squeeze pressure, MSP)较安慰剂组显著降低;术后12 wk MSP显著低于安慰剂组。但术后14 d治疗组和安慰剂组患者疼痛程度比较,无统计学差异。产生此种结果的原因,可能是因为术后两组患者每日都给予甲硝唑灌肠,甲硝唑的止痛效果可能对观察结果产生影响。Al-Mulhim等^[4]研究表明:MMH术后应用甲硝唑灌肠,可以减轻疼痛,并且促进伤口愈合。注射BT后易导致肛周脓肿、局部血栓及肛门失禁等并发症。3组研究中,患者术后出现肛门失禁概率约为0%-33%,尽管这些症状只是排气失禁,但是仍然持续了3-12 wk。

BT在应用于治疗肛裂方面,大剂量的BT可能比小剂量的效果要好^[37],在剂量方面没有标准规定^[38,39],但是注射的部位、注射针与内括约肌的角度,这些都会影响到治疗效果^[40]。

3.2.2 硝酸甘油: 一氧化氮(NO)是一种抑制性的神经递质,他源于胃肠道非肾上腺素能非胆碱能神经末梢,可介导内括约肌松弛。外源性的GTN软膏是NO供体,可以缓解内括约肌的痉挛,从而达到止痛的效果。GTN作为内括约肌的解痉剂已经被广泛用于肛裂的治疗,并且其疗效

得到了人们的认可,研究表明^[41,42],内括约肌痉挛缓解后,肛周皮肤的血流增多,促进了创面的愈合。

Ratnasingham等^[43]对痔切除术后应用GTN软膏的5项临床研究进行Meta分析,发现:应用GTN软膏可以显著缓解术后3、7 d肛门疼痛;其中3项研究中,应用0.2%GTN软膏术后3 wk可以明显提高治愈率;而对于其不良反应-头痛,治疗组与安慰剂组无统计学差异,其原因可能为每天给予0.2%GTN软膏1 g的剂量较低,故GTN在治疗痔切除术后方面利大于弊。但在疗效方面结果也是不尽相同,Wasvary等^[8]研究发现:痔切除术后局部应用0.2%GTN软膏与安慰剂组在止痛方面的疗效无统计学差异,且头痛发病率要显著高于安慰剂组。Tan等^[44]和Elton等^[45]认为0.2%GTN软膏并没有缓解术后疼痛。而对于GTN应用于吻合器痔固定术方面,Cross等^[16]研究发现:SH术后,局部0.2%GTN外用,治疗组和对照组的疼痛评分无统计学差异,可能是因为SH与MMH术式不同,切口的位置不同。在术后并发症方面,有的研究称应用NO供体可引起严重的头痛、头晕、低血压及肛门瘙痒等不良反应^[45,46]。在这些研究中,疼痛的缓解和不良反应的发生存在一定差异,其可能与所用药物剂量的不同及治疗时间的长短有关;亦可能与肛门创面影响其吸收有关。

3.2.3 钙离子通道阻滞剂: 钙离子通道阻滞剂一般用于治疗心血管疾病。口服或肛周局部应用钙离子通道阻滞剂(硝苯地平、地尔硫卓)可以缓解内括约肌痉挛,降低肛管静息压,从而用于肛裂^[47,48]及痔术后并发症的治疗。

曲美布汀是通过阻断钙离子通道,降低平滑肌细胞的兴奋性,缓解痉挛,对于治疗肠易激综合征所导致的腹泻、腹痛、便秘等症状均有不同程度的治疗效果。Ho等^[49]通过10例未行手术治疗的痔患者局部应用曲美布汀,发现用药后4 h较用药前肛管静息压降低35%;但将曲美布汀应用于痔切除术后患者,发现其在缓解疼痛方面与对照组无统计学差异。产生这种现象的原因可能是术中麻醉及手术创面影响了曲美布汀的吸收,或者降低了他的功效。

硝苯地平、地尔硫卓是有效的一线化学性内括约肌切开的药物,可缓解因内括约肌痉挛而导致的疼痛,Antropoli等^[50]研究发现:硝苯地平能够有效的降低肛管静息压(22%-28%),并能有效的缓解肛裂引起的肛门疼痛。Sajid等^[51]的

一篇Meta分析中指出: 地尔硫卓与GTN的疗效相当, 但是不良反应要少于后者。Amoli等^[52]和Silverman等^[53]分别通过一项前瞻性的随机对照试验研究发现: 痔切除术后, 2%地尔硫卓局部外用可以显著缓解术后1 wk肛门疼痛的症状, 可以减少口服止痛药的应用, 偶有肛门瘙痒, 但并无头痛、头晕等不良反应。Perrotti等^[54]通过多中心的随机对照研究发现: MMH术后予0.3%硝苯地平软膏联合1.5%利多卡因软膏外用与单独应用1.5%利多卡因软膏比较, 前者在术后6、7 d止痛效果要显著优于后者, 术后2 wk满意率分别为: 96.8%和97.6%。

在药物治疗痔术后内括约肌痉挛时, 肛门失禁症状的出现在治疗组似乎更为频繁, 但是与对照组无统计学差异。肛门失禁产生的原因较为复杂, 他的出现也可能与切除的痔体有关, 因为肛垫组织参与肛管静息压的维持。痔切除术后可引起暂时性的肛门失禁(2%-12%)^[55]; 但有研究^[56]发现痔切除术并不会对对肛门自制的功能产生影响, 但对于术前肛门自制功能不良的患者, 手术可能会加重这种症状。

3.3 不同解痉方式的比较

3.3.1 内括约肌侧切vs地尔硫卓: Chauhan等^[57]通过对比MMH术后配合内括约肌侧切和2%地尔硫卓软膏局部应用7 d发现: 术后前3 d, 两者在改善患者术后疼痛方面无显著差异; 但术后4 d, 前者可显著缓解疼痛, 并且可以减少止痛药的应用。但前者50例患者中有3例存在偶有排气失禁; 后者52例中有1例术后出现头痛, 但对于术后并发症两者之间无统计学差异。

3.3.2 肉毒毒素vs硝酸甘油: Patti等^[58]研究发现: MMH术后一组给予前正中中线两侧的内括约肌分别注射10 IU的BT, 另一组给予0.2%GTN软膏300 mg局部外用, 3次/d, 连续使用30 d, 两组的最大肛管静息压在术后5 d较正常基线都显著降低, 前者尤甚, 但术后40 d时, 前者最大肛管静息压仍低于基线值, 而后者与基线值无统计学差异。BT组较GTN软膏组在减轻术后疼痛方面更为有效, 正如GTN软膏用于治疗肛裂的效果相似, 其能够较快的缓解疼痛症状, 但是作用不够持久, 易产生耐药性, 故远期的复发率较高。

4 结论

内括约肌的痉挛是肛裂疼痛和痔切除术后疼痛的一个重要原因。对于药物治疗肛裂的研究较多, 也较为深入和广泛: 多中心的随机试验、

术后长期的临床随访、短期及长期的治愈率和复发率、不同剂量疗效的比较、不同药物疗效之间的比较、不同药物组合使用的临床观察、药物解痉与手术内括约肌切开的疗效观察。故在治疗肛裂方面, 运用GTN、钙离子通道阻滞剂、BT、内括约肌侧切术的顺序被列入肛裂治疗指南^[59]。但关于痔术后缓解内括约肌痉挛的研究较少, 仅局限于不同药物对术后短期的临床观察, 缺乏多中心、大样本的随机对照研究及对术后临床疗效的长期随访。

手术方式的解痉能够达到令人满意的效果, 但对肛门自制功能的远期影响尚不能确定; 而通过药物解痉, BT局部注射优势明显, 可作为术后药物解痉的首选, 但囿于昂贵的价格及其并发症, 许多医生更倾向于使用GTN及钙离子通道阻滞剂, 但应尽量避免其不良反应的发生。总之, 痔术后予以解痉治疗, 能够显著缓解术后并发症(疼痛、水肿、尿潴留等)的发生, 提高患者的满意度, 改善患者术后的生活质量。

5 参考文献

- 1 Davies J, Duffy D, Boyt N, Aghahoseini A, Alexander D, Leveson S. Botulinum toxin (botox) reduces pain after hemorrhoidectomy: results of a double-blind, randomized study. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1097-1102 [PMID: 12907905 DOI: 10.1097/01.DCR.0000074720.20187.78]
- 2 Khubchandani IT. Internal sphincterotomy with hemorrhoidectomy does not relieve pain: a prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1452-1457 [PMID: 12432291 DOI: 10.1097/01.DCR.0000034133.00237.9C]
- 3 Mlakar B, Kosorok P. Flavonoids to reduce bleeding and pain after stapled hemorrhoidopexy: a randomized controlled trial. *Wien Klin Wochenschr* 2005; 117: 558-560 [PMID: 16158207 DOI: 10.1007/s00508-005-0420-1]
- 4 Al-Mulhim AS, Ali AM, Al-Masuod N, Alwahidi A. Post hemorrhoidectomy pain. A randomized controlled trial. *Saudi Med J* 2006; 27: 1538-1541 [PMID: 17013479]
- 5 Ala S, Saeedi M, Eshghi F, Mirzabeygi P. Topical metronidazole can reduce pain after surgery and pain on defecation in postoperative hemorrhoidectomy. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 235-238 [PMID: 18176825 DOI: 10.1007/s10350-007-9174-3]
- 6 Pascual I, García-Olmo D, Martínez-Puente C, Pascual-Montero JA. [Ultrasound findings in spontaneous and postoperative anal pain]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 764-767 [PMID: 19222335]
- 7 Ho YH, Tan M. Ambulatory anorectal manometric findings in patients before and after haemorrhoidectomy. *Int J Colorectal Dis* 1997; 12: 296-297 [PMID: 9401845]
- 8 Wasvary HJ, Hain J, Mosed-Vogel M, Bendick P, Barkel DC, Klein SN. Randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of effect of nitroglycerin ointment on pain after hemorrhoidectomy.

■创新盘点

本文对痔外剥内扎术后解痉治疗的研究进展进行了全面阐述, 比较了痔术后疼痛各种治疗方法的利弊, 系统提出了痔切除术联合术后括约肌切开的方式来缓解术后疼痛的治疗方法。

■应用要点

肛门内括约肌的痉挛是痔术后肛门疼痛产生的主要原因之一,可以根据患者不同的肛管直肠压力来选择不同方式的内括约肌切开,从而在缓解内括约肌痉挛的同时尽可能的避免并发症的发生。

- 9 Lorenzo-Rivero S. Hemorrhoids: diagnosis and current management. *Am Surg* 2009; 75: 635-642 [PMID: 19725283]
- 10 Ramadan E, Vishne T, Dreznik Z. Harmonic scalpel hemorrhoidectomy: preliminary results of a new alternative method. *Tech Coloproctol* 2002; 6: 89-92 [PMID: 12402052 DOI: 10.1007/s101510200019]
- 11 Chen CW, Lai CW, Chang YJ, Chen CM, Hsiao KH. Results of 666 consecutive patients treated with LigaSure hemorrhoidectomy for symptomatic prolapsed hemorrhoids with a minimum follow-up of 2 years. *Surgery* 2013; 153: 211-218 [PMID: 22910492 DOI: 10.1016/j.surg.2012.06.035]
- 12 Cavazzoni E, Bugiantella W, Graziosi L, Silvia Franceschini M, Cantarella F, Rosati E, Donini A. Emergency transanal haemorrhoidal Doppler guided dearterialization for acute and persistent haemorrhoidal bleeding. *Colorectal Dis* 2013; 15: e89-e92 [PMID: 23045996 DOI: 10.1111/codi.12053]
- 13 Scheyer M, Antonietti E, Rollinger G, Mall H, Arnold S. Doppler-guided hemorrhoidal artery ligation. *Am J Surg* 2006; 191: 89-93 [PMID: 16399113 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2005.10.007]
- 14 Ammaturo C, Tufano A, Spiniello E, Sodano B, Iervolino EM, Brillantino A, Braccio B. Stapled haemorrhoidopexy vs. Milligan-Morgan haemorrhoidectomy for grade III haemorrhoids: a randomized clinical trial. *G Chir* 2012; 33: 346-351 [PMID: 23095566]
- 15 Zampieri N, Castellani R, Andreoli R, Geccherle A. Long-term results and quality of life in patients treated with hemorrhoidectomy using two different techniques: Ligasure versus transanal hemorrhoidal dearterialization. *Am J Surg* 2012; 204: 684-688 [PMID: 23140829 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.01.014]
- 16 Cross T, Bartlett L, Mushaya C, Ashour M, Ho YH. Glyceryl trinitrate ointment did not reduce pain after stapled hemorrhoidectomy: a randomized controlled trial. *Int Surg* 2012; 97: 112-119 [PMID: 23102076 DOI: 10.9738/CC92.1]
- 17 Chauhan A, Thomas S, Bishnoi PK, Hadke NS. Randomized controlled trial to assess the role of raised anal pressures in the pathogenesis of symptomatic early hemorrhoids. *Dig Surg* 2007; 24: 28-32 [PMID: 17369678 DOI: 10.1159/000100915]
- 18 Patti R, Almasio PL, Arcara M, Sparacello M, Termine S, Bonventre S, Di Vita G. Long-term manometric study of anal sphincter function after hemorrhoidectomy. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 253-257 [PMID: 16862400 DOI: 10.1007/s00384-006-0174-x]
- 19 Toyonaga T, Matsushima M, Sogawa N, Jiang SF, Matsumura N, Shimojima Y, Tanaka Y, Suzuki K, Masuda J, Tanaka M. Postoperative urinary retention after surgery for benign anorectal disease: potential risk factors and strategy for prevention. *Int J Colorectal Dis* 2006; 21: 676-682 [PMID: 16552523 DOI: 10.1007/s00384-005-0077-2]
- 20 Kanellos I, Zacharakis E, Christoforidis E, Angelopoulos S, Kanellos D, Pramateftakis MG, Betsis D. Usefulness of lateral internal sphincterotomy in reducing postoperative pain after open hemorrhoidectomy. *World J Surg* 2005; 29: 464-468 [PMID: 15770383 DOI: 10.1007/s00268-004-7432-2]
- 21 Galizia G, Lieto E, Imperatore V, Pelosio L, Castellano P. [The usefulness of lateral internal sphincterotomy combined with hemorrhoidectomy in the treatment of hemorrhoids: a randomized prospective study]. *G Chir* 2000; 21: 127-134 [PMID: 10810824]
- 22 Diana G, Guercio G, Cudia B, Ricotta C. Internal sphincterotomy reduces postoperative pain after Milligan Morgan haemorrhoidectomy. *BMC Surg* 2009; 9: 16 [PMID: 19852840 DOI: 10.1186/1471-2482-9-16]
- 23 杨建华, 钱海华. 内括约肌部分切断对减轻痔术后疼痛水肿的临床观察. *中医学报* 2010; 25: 67-68
- 24 杨素文. 内括约肌部分切断对改善痔术后疼痛的作用. *中国中西医结合外科杂志* 2010; 16: 584-585
- 25 哈晓冬. 内括约肌侧切术对缓解嵌顿痔术后疼痛的临床体会. *中外医疗* 2009; 10: 52
- 26 周志球, 刘暄. 内括约肌部分切断对减轻嵌顿痔术后疼痛的临床观察. *结直肠肛门外科* 2006; 12: 103-104
- 27 伍发时, 曾海平. 外剥内扎内括约肌部分离断治疗环状混合痔20例分析. *大肠肛门病外科杂志* 2005; 11: 155
- 28 Mathai V, Ong BC, Ho YH. Randomized controlled trial of lateral internal sphincterotomy with haemorrhoidectomy. *Br J Surg* 1996; 83: 380-382 [PMID: 8665199]
- 29 Gravié JF, Lehur PA, Hutten N, Papillon M, Fantoli M, Descottes B, Pessaux P, Arnaud JP. Stapled hemorrhoidopexy versus milligan-morgan hemorrhoidectomy: a prospective, randomized, multicenter trial with 2-year postoperative follow up. *Ann Surg* 2005; 242: 29-35 [PMID: 15973098]
- 30 Hosseini SV, Sharifi K, Ahmadfard A, Mosallaei M, Pourahmad S, Bolandparvaz S. Role of internal sphincterotomy in the treatment of hemorrhoids: a randomized clinical trial. *Arch Iran Med* 2007; 10: 504-508 [PMID: 17903056 DOI: 07104/AIM.0014]
- 31 Brown CJ, Dubreuil D, Santoro L, Liu M, O'Connor BI, McLeod RS. Lateral internal sphincterotomy is superior to topical nitroglycerin for healing chronic anal fissure and does not compromise long-term fecal continence: six-year follow-up of a multicenter, randomized, controlled trial. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 442-448 [PMID: 17297553 DOI: 10.1007/s10350-006-0844-3]
- 32 Yiannakopoulou E. Botulinum toxin and anal fissure: efficacy and safety systematic review. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1-9 [PMID: 21822595 DOI: 10.1007/s00384-011-1286-5]
- 33 Golfam F, Golfam P, Khalaj A, Sayed Mortaz SS. The effect of topical nifedipine in treatment of chronic anal fissure. *Acta Med Iran* 2010; 48: 295-299 [PMID: 21287460]
- 34 Hashmi F, Siddiqui FG. Diltiazem (2%) versus glyceryl trinitrate cream (0.2%) in the management of chronic anal fissure. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19: 750-753 [PMID: 20042150 DOI: 12.2009/JCP-SP.750753]
- 35 Patti R, Almasio PL, Muggeo VM, Buscemi S, Arcara M, Matranga S, Di Vita G. Improvement of wound healing after hemorrhoidectomy: a double-blind, randomized study of botulinum toxin injection. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2173-2179 [PMID: 16400513 DOI: 10.1007/s10350-005-0179-5]
- 36 Singh B, Box B, Lindsey I, George B, Mortensen N, Cunningham C. Botulinum toxin reduces anal spasm but has no effect on pain after haemorrhoidectomy. *Colorectal Dis* 2009; 11: 203-207 [PMID: 18462246 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01549.x]

- 37 Madalinski MH, Slawek J, Zbytek B, Duzynski W, Adrich Z, Jagiello K, Kryszewski A. Topical nitrates and the higher doses of botulinum toxin for chronic anal fissure. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 977-979 [PMID: 11490852]
- 38 Schubert MC, Sridhar S, Schade RR, Wexner SD. What every gastroenterologist needs to know about common anorectal disorders. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3201-3209 [PMID: 19598294]
- 39 Madalinski M. The treatment algorithm instead of the unknown optimal dose of botulinum toxin for chronic anal fissure. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 125; author reply 125-127 [PMID: 15225181 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02011.x]
- 40 Madalinski M. To predict and understand anal fissure healing. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 263 [PMID: 20549217 DOI: 10.1007/s00384-010-0983-9]
- 41 Kua KB, Kocher HM, Kelkar A, Patel AG. Effect of topical glyceryl trinitrate on anodermal blood flow in patients with chronic anal fissures. *ANZ J Surg* 2001; 71: 548-550 [PMID: 11527267]
- 42 Altomare DF, Rinaldi M, Milito G, Arcanà F, Spinellic F, Nardelli N, Scardigno D, Pulvirenti-D'Urso A, Bottini C, Pescatori M, Lovreglio R. Glyceryl trinitrate for chronic anal fissure—healing or headache? Results of a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 174-179; discussion 174-179 [PMID: 10696890]
- 43 Ratnasingham K, Uzzaman M, Andreani SM, Light D, Patel B. Meta-analysis of the use of glyceryl trinitrate ointment after haemorrhoidectomy as an analgesic and in promoting wound healing. *Int J Surg* 2010; 8: 606-611 [PMID: 20691294 DOI: 10.1016/j.ijsu.2010.04.012]
- 44 Tan KY, Sng KK, Tay KH, Lai JH, Eu KW. Randomized clinical trial of 0.2 per cent glyceryl trinitrate ointment for wound healing and pain reduction after open diathermy haemorrhoidectomy. *Br J Surg* 2006; 93: 1464-1468 [PMID: 17115390 DOI: 10.1002/bjs.5483]
- 45 Elton C, Sen P, Montgomery AC. Initial study to assess the effects of topical glyceryl trinitrate for pain after haemorrhoidectomy. *Int J Surg Investig* 2001; 2: 353-357 [PMID: 12678539]
- 46 Coskun A, Duzgun SA, Uzunkoy A, Bozer M, Aslan O, Canbeyli B. Nitroderm TTS band application for pain after hemorrhoidectomy. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 680-685 [PMID: 11357030]
- 47 Cook TA, Humphreys MM, McC Mortensen NJ. Oral nifedipine reduces resting anal pressure and heals chronic anal fissure. *Br J Surg* 1999; 86: 1269-1273 [PMID: 10540130 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01292.x]
- 48 Carapeti EA, Kamm MA, Phillips RK. Topical diltiazem and bethanechol decrease anal sphincter pressure and heal anal fissures without side effects. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1359-1362 [PMID: 11052511]
- 49 Ho YH, Seow-Choen F, Low JY, Tan M, Leong AP. Randomized controlled trial of trimebutine (anal sphincter relaxant) for pain after haemorrhoidectomy. *Br J Surg* 1997; 84: 377-379 [PMID: 9117313]
- 50 Antropoli C, Perrotti P, Rubino M, Martino A, De Stefano G, Migliore G, Antropoli M, Piazza P. Nifedipine for local use in conservative treatment of anal fissures: preliminary results of a multicenter study. *Dis Colon Rectum* 1999; 42: 1011-1015 [PMID: 10458123]
- 51 Sajid MS, Rimple J, Cheek E, Baig MK. The efficacy of diltiazem and glyceryltrinitrate for the medical management of chronic anal fissure: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 1-6 [PMID: 17846781 DOI: 10.1007/s00384-007-0384-x]
- 52 Amoli HA, Notash AY, Shahandashti FJ, Kenari AY, Ashraf H. A randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of the effect of topical diltiazem on posthaemorrhoidectomy pain. *Colorectal Dis* 2011; 13: 328-332 [PMID: 19912283 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.02138.x]
- 53 Silverman R, Bendick PJ, Wasvary HJ. A randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial of the effect of a calcium channel blocker ointment on pain after hemorrhoidectomy. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1913-1916 [PMID: 16175328 DOI: 10.1007/s10350-005-0135-4]
- 54 Perrotti P, Dominici P, Grossi E, Cerutti R, Antropoli C. Topical nifedipine with lidocaine ointment versus active control for pain after hemorrhoidectomy: results of a multicentre, prospective, randomized, double-blind study. *Can J Surg* 2010; 53: 17-24 [PMID: 20100408]
- 55 Madoff RD, Fleshman JW. American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of hemorrhoids. *Gastroenterology* 2004; 126: 1463-1473 [PMID: 15131807]
- 56 Li YD, Xu JH, Lin JJ, Zhu WF. Excisional hemorrhoidal surgery and its effect on anal continence. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4059-4063 [PMID: 22912558 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.4059]
- 57 Chauhan A, Tiwari S, Mishra VK, Bhatia PK. Comparison of internal sphincterotomy with topical diltiazem for post-hemorrhoidectomy pain relief: a prospective randomized trial. *J Postgrad Med* 2009; 55: 22-26 [PMID: 19242074]
- 58 Patti R, Almasio PL, Arcara M, Sammartano S, Romano P, Fede C, Di Vita G. Botulinum toxin vs. topical glyceryl trinitrate ointment for pain control in patients undergoing hemorrhoidectomy: a randomized trial. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1741-1748 [PMID: 16990976 DOI: 10.1007/s10350-006-0677-0]
- 59 Perry WB, Dykes SL, Buie WD, Rafferty JF. Practice parameters for the management of anal fissures (3rd revision). *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1110-1115 [PMID: 20628272 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181e23dfe]

同行评价

本文对痔外剥内扎术后的解痉治疗进行了系统的阐述, 论述清晰、逻辑性强; 并结合大量的临床研究比较了手术治疗、不同药物治疗的疗效, 得出的结论明确, 对临床工作者有一定的参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



microRNAs调控消化系肿瘤多药耐药的研究进展

潘树芳, 隋华, 李琦, 石晓兰

■背景资料

肿瘤的多药耐药(multidrug resistance, MDR)是影响化疗效果的最大障碍,尤其是消化系统肿瘤发生耐药的现象最为突出。已有研究证实微小RNA(microRNAs)可以通过降解mRNA或者抑制mRNA翻译的方式调控多种基因的表达,近年来研究发现microRNAs与肿瘤MDR的发生密切相关。但是microRNAs调控MDR的机制尚不明确。

潘树芳, 石晓兰, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科 上海市 200062

隋华, 上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所 上海市 200062

李琦, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 201203
潘树芳, 硕士研究生, 主要从事肿瘤的临床及实验研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81202812, 81273958

上海市科委基金资助项目, No. 12140902500

上海市教委基金资助项目, Nos. 2011JW57, 12ZZ118

上海市卫生局科研基金资助项目, Nos. 20114Y013, 2010019

作者贡献分布: 本文综述写作由潘树芳与隋华完成; 李琦与石晓兰负责审校。

通讯作者: 石晓兰, 副教授, 主任医师, 200062, 上海市普陀区兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科。

lan701206@163.com

电话: 021-62572723-4403

收稿日期: 2013-04-16 修回日期: 2013-05-15

接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-07-08

Progress in understanding role of microRNAs in multidrug resistance in digestive system cancers

Shu-Fang Pan, Hua Sui, Qi Li, Xiao-Lan Shi

Shu-Fang Pan, Xiao-Lan Shi, Department of Oncology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Hua Sui, Interventional Cancer Institute of Integrative Medicine and Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Qi Li, Department of Medical Oncology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Supported by: National Natural Foundation Science of China, Nos. 81202812 and 81273958; the Foundation Shanghai Municipal Science and Technology Commission, No.12140902500; the Foundation of Shanghai Municipal Education Commission, Nos. 2011JW57 and 12ZZ118; the Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, Nos. 20114Y013 and 2010019

Correspondence to: Xiao-Lan Shi, Associate Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Putuo District, Shanghai 200062, China. lan701206@163.com

Received: 2013-04-16 Revised: 2013-05-15

Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-07-08

Abstract

Multidrug resistance (MDR) is a dominant obstacle to successful cancer chemotherapy, especially in digestive cancers. Therefore, reversing

multidrug resistance has become a hot research topic. Recently, studies have shown that MDR is associated with aberrant expression of microRNAs (miRNA) in several types of cancer. MicroRNAs are a class of endogenous non-coding RNA molecules, which act as master regulators of gene expression through mRNA cleavage or translational repression. This review discusses the biological characteristics of miRNAs, their relationship with MDR in digestive system cancers, and potential signal transduction pathways involved, with an aim to provide new insights into the prevention and targeted therapy of MDR in digestive system cancers.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MicroRNAs; Digestive system cancers; Multidrug resistance

Pan SF, Sui H, Li Q, Shi XL. Progress in understanding role of microRNAs in multidrug resistance in digestive system cancers. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(19): 1834-1840 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1834.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1834>

摘要

肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)是影响化疗效果的最大障碍,尤其是消化系统肿瘤发生耐药的现象最为突出。因此,如何逆转MDR已经成为抗肿瘤研究的热点问题。近年来,有关研究发现微小RNA(microRNAs)与多种肿瘤耐药的发生密切相关。microRNAs是一类内源性非编码RNA分子,通过降解mRNA或抑制mRNA翻译的方式调控着众多基因的表达。本综述重点阐述了microRNAs的生物学特性,与胃癌、肠癌、肝癌、胆管癌及胰腺癌等消化系统肿瘤MDR的关系及其潜在的信号调控通路,以期为消化系统肿瘤耐药的预防和靶向治疗提供新的思路 and 手段。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: MicroRNAs; 消化系统肿瘤; 多药耐药

■同行评议者

刘凤斌, 教授, 广州中医药大学第一附属医院消化内科; 张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

核心提示: 微小RNA(microRNAs)主要是通过影响肿瘤多药耐药(multidrug resistance)的途径, 如通过影响耐药蛋白, 凋亡, 细胞信号转导通路来调控消化系肿瘤的耐药。

潘树芳, 隋华, 李琦, 石晓兰. microRNAs调控消化系肿瘤多药耐药的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1834-1840
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1834.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1834>

0 引言

微小RNA(microRNAs)是一类长度约为18-25个核苷酸的内源性非编码单链小RNA分子, 他可以调控靶基因的表达, 参与细胞的增殖、分化、凋亡等生物学过程, 而肿瘤细胞产生耐药性也会涉及这些生物学行为的改变, 近来发现microRNAs可以调节肿瘤的多药耐药(multidrug resistance, MDR)现象. 本文就近年来microRNAs调节消化系肿瘤MDR的研究进展做一综述.

1 肿瘤MDR的机制

MDR亦被称为多药抗药性, 是指某些癌细胞对一种抗肿瘤药物产生抗药性, 同时对其他非同类型的药物亦产生抗药性的现象^[1]. 肿瘤细胞产生MDR的原因和机制非常复杂, 目前已证实肿瘤MDR的机制主要包括: (1)耐药相关蛋白的高表达, 例如P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp), MDR相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP), 肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP), 乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)等^[2]; (2)酶系统的改变, 例如谷胱甘肽-S转移酶(glutathione S-transferase, GST), 拓扑异构酶(Topology isomerase, Topo), 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)等^[2]; (3)肿瘤细胞凋亡的抑制. 促凋亡基因*Bax*、*Bad*、*Bak*、*Bik*等^[3]以及*Caspase*^[4]表达的减少; 抗凋亡基因*Bcl-2*、*Bcl-XL*、*Mcl-1*等^[3]表达的升高; (4)转录因子的激活. 如通过核转录因子κB(nuclear factor κB, NF-κB), 缺氧诱导因子1α(hypoxia inducible factor 1α, HIF-1α)的激活^[2], 来促进耐药蛋白的高表达, 使细胞产生耐药; (5)细胞信号转导通路的异常. 如JNK信号通路^[5]、STAT3信号通路^[6]的异常. 此外, WNT5A、Notch、SHH、PI3K/Akt等细胞信号传导通路均与MDR相关^[7]. 尽管影响耐药的因素众多, 但归根结底, 最普遍存在的耐药现象是肿瘤细胞内药物蓄积水平的降低. 因此, 基于以

往研究, 本文将从以上几种途径来探讨microRNAs如何调控各种消化系肿瘤细胞的MDR.

2 microRNAs概述

1993年, Lee等^[8]首先在秀丽新小杆线虫中发现了第一个microRNAs(简称miRNA), 命名为lin-4. 2000年, Reinhart等^[9]发现了另一个类似的具有转录后调节功能的小分子RNA: let-7. 从而揭开了miRNA的研究序幕. miRNA是一类长约18-25个核苷酸的内源性非编码单链RNA分子. miRNA通过RNA聚合酶II或聚合酶III转录合成初级miRNA(pri-miRNA), 随后pri-miRNA被Drosha及DGCR8剪切成具有发夹环结构的前体miRNA(pre-miRNA), 在输出蛋白5(exportin-5)和Ran复合物协助下转运出核, 然后在细胞质内被Dicer/TRBP剪切成成熟的miRNA^[10]. 成熟的miRNA与其互补链结合成双螺旋结构, 然后双螺旋打开, 其中一条与RNA诱导的基因沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)形成非对称的RISC-复合物(asymmetric RISC assembly), 该非对称RISC复合物能够与目标靶miRNA结合. miRNA通过两种方式调控靶基因的表达, 一种是结合到靶mRNA的3'UTR(3'端非翻译区)抑制其翻译, 另一种是和siRNA(小RNA干扰)一样, 与靶mRNA结合, 促进其降解^[11,12]. 目前, 人类基因组中确认的miRNA的数目已超过1000个. 其中至少有200多种与癌症的发生有关, 许多miRNA可能扮演着癌基因和抑癌基因的角色^[13]. miRNA在肿瘤细胞中表达上升被称为促癌miRNA, 在肿瘤细胞中表达下降被称为抑癌miRNA.

3 microRNAs调节各种消化系肿瘤耐药

3.1 microRNAs与胃癌耐药 胃癌是世界上最常见的肿瘤之一, 其发病率仅次于肺癌、乳腺癌、结直肠癌, 位居第4位; 中国是一个胃癌发病大国, 根据2007年肿瘤登记地区数据统计, 中国胃癌的发病率为33.68/100000, 仅次于肺癌^[14]. 大量研究发现miRNA在逆转胃癌耐药中起重要作用. 在应用miRNA芯片表达谱分析胃癌细胞表达差异明显的microRNAs过程中发现, 与胃癌敏感细胞相比, miR-200c在胃癌耐药细胞中表达下调, 进一步研究证实miR-200c能够显著降低SGC7901/DDP耐药细胞对顺铂、阿霉素、5-氟脲嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)及紫杉醇的IC₅₀^[15]. 其他研究也得出相同的结论, 类似的miRNA有miR-15b

■ 研发前沿

近年来研究证实, microRNAs参与并调控了肿瘤MDR的发生发展, 这些发现为消化系肿瘤耐药的预防和靶向治疗提供了新的思路 and 手段.

■ 相关报道

microRNAs通过调节靶基因参与并调控了各种肿瘤MDR的发生发展,并且可以逆转肿瘤的MDR.

和miR-16^[16]. 此外,从细胞凋亡角度研究也发现,表达异常的miRNA可以调控抗凋亡基因*Bcl-2*,促凋亡基因*p53*的表达,从而改变胃癌细胞的耐药性. 最新研究显示miR-497^[17]、miR-181b^[18]、miR-125b^[19]在胃癌MDR细胞SGC7901/VCR中呈低表达,恢复miR-497、miR-181b、miR-125b的表达,可以增加SGC7901/VCR细胞对化疗药物VCR、5-FU、CDDP、VP-16和ADR的敏感性. 进一步研究显示miR-125b、miR-497、miR-181b在胃癌耐药细胞的直接靶点是*Bcl-2*基因以及*MCL1*基因,说明他们是通过抑制胃癌耐药细胞凋亡来发生耐药的. 此外, Ji等^[20]报道miR-34能恢复p53缺陷的胃癌细胞对细胞毒药物阿霉素、顺铂、吉西他滨、多西他赛的敏感性,主要是通过以*Bcl-2*为靶基因诱导凋亡从而恢复p53的功能. 提示miR-34在野生型*p53*基因诱导细胞凋亡的生物学过程中发挥重要作用,可以逆转胃癌细胞的耐药. 另有研究发现^[21]miR-143、miR-145在胃癌细胞中低表达,转染miR-143或者miR-145后能够提高肿瘤细胞对5-FU的敏感性. 其中转染miR-145的肿瘤抑制效应高于miR-143,二者同时转染存在相加效应. 深入研究证实,这两种miRNA的靶基因为胰岛素受体底物1和beta肌动蛋白.

3.2 microRNAs与大肠癌耐药 结直肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤. 在中国,其发病率和病死率呈上升趋势,甚至在经济发展较快的城市和地区,已超越胃癌跃居第2位,仅次于肺癌^[22]. 大量研究发现大肠癌耐药的发生与异常表达的miRNA密切相关. Svoboda等^[23]研究发现,与直肠癌患者化疗前相比,经卡培他滨化疗后效果不理想的患者外周血内miR-125b和miR-137的表达升高,提示miR-125b和miR-137的过表达可能是导致直肠癌细胞耐药的原因之一. 同时,在体外肠癌细胞的实验中也发现^[24,25],在30多个表达异常的miRNAs中,miR-1915以及miR-297表达下调,升高miR-1915以及miR-297的表达,能够增加大肠癌细胞HCT116/L-OHP对长春新碱,阿霉素,强力霉素以及奥沙利铂的敏感性. 在以靶基因为转运蛋白的miRNA研究中,有人发现上调miR-519c后,可以抑制靶基因*ABCG2*的表达,提高了细胞对药物的敏感性^[26]. Li等^[27]发现,在*p53*基因突变的结肠癌细胞中,miR-203的过度表达可以抑制靶基因*AKT2*的活性,下调*MTDH*基因和*HSP90*基因以及抗凋亡蛋白Bax-

XL的表达,上调促凋亡蛋白Bax和Caspase3的活性,从而改变耐药细胞对紫杉醇的耐药性. 在通过从信号转导角度研究miRNA与耐药间的关系中, Akao等^[28]研究表明,在大肠癌DLD-1/5-FU耐药细胞中,miR-34a通过阻断磷酸肌醇3激酶(PI3K/AKT)信号通路,下调靶基因*Sirt1*和*E2F3*,来逆转DLD-1细胞对5-FU的耐药性. 也有研究^[29]从经典K-ras途径探讨miRNA与肠癌耐药的机制及作用. 将耐西妥昔单抗的肠癌细胞HCT-116与敏感细胞Caco-2相比,发现miR-146b-3p在耐药细胞中表达异常上升,因此推测miR-146b-3p参与结肠癌西妥昔单抗耐药性的形成. 并且推测,miRNA-17的上调,以及靶基因为K-ras的*Let-7b*, *Let-7e*的下调都与西妥昔单抗耐药性相关. Valeri等^[30]证实,miR-21过表达能够干扰5-FU诱导的结直肠癌细胞G/M破坏性停滞和凋亡,可能与下调错配修复(mismatch repair, MMR)突变基因的表达有关. Rossi等^[31]在人类结肠癌细胞株中发现,5-FU能引起miR-21上调,使肿瘤细胞抗凋亡,但也能引起miR200b下调导致*PTPN12*基因表达上升,可能与癌基因产物如C-Abl、Src、Ras等失活有关而促进凋亡,这就为miRNA与肿瘤耐药机制的研究提供了思路. 同样,也有研究^[28,32]发现其他miRNA的表达差异也可以调控肠癌MDR,但是靶基因并非公认的几种诱发耐药的基因,此外,也有研究发现,has-miR-452^[33]和has-miR-506^[33]的表达下调以及miR-20^[34]的表达上调诱导了肠癌细胞的耐药. Mader等^[35]在研究miRNA调节体外结肠癌耐药性时发现,通过抑制miRNA-10b、miRNA-141和miRNA-200a的表达,能够增强肿瘤对5-FU的敏感性. 但这些miRNA是怎样调控靶基因的还有待于进一步的研究.

3.3 microRNAs与肝癌、胆管癌的耐药 原发性肝癌是世界范围内最常见和最具侵袭性的恶性肿瘤之一. 大量研究证据表明miRNA在逆转肝癌,胆管癌耐药中发挥着重要作用. 已有研究证实,以*MDR-1*、*GST- π* 、*MRP*为靶基因的miR-122在肝癌耐药细胞中的表达是下调的,研究人员发现通过恢复其表达,可以增加肝癌细胞对化疗药物阿霉素(adriamycin, ADM)和长春新碱(vincristine, VCR)等化疗药物的敏感性^[36]. 此外,大量研究也显示,不同miRNA可以通过调控靶基因*p53*、*Caspase3*等生物学变化,来调节肝癌MDR的发生. Fornari等^[37]通过研究miR-122与肝癌细胞对阿霉素的敏感性,发现下

调miR122的表达可以使肝癌细胞对阿霉素的敏感性升高, 并且是通过促进p53的表达抑制细胞的凋亡来实现的. 后来他们在体外实验中又发现^[38], 下调miR-199a-3p的表达也可以增加肝癌细胞对阿霉素的敏感性, 其分子机制是通过直接作用在雷帕霉素靶蛋白和C-Met来影响肝癌细胞对阿霉素的敏感性. Tsang等^[39]研究表明, 在A431和HepG2细胞中过表达let-7a增强了其对阿霉素、紫杉醇及干扰素的耐药性, 并且发现, let-7a通过下调细胞凋亡中的启动酶Caspase3来抑制细胞凋亡, 抑制let-7a的表达则增强了对化疗药物的敏感性, 这些表明, let-7a通过调节Caspase3的活性而起作用. 同样, 通过调节Caspase3的表达来逆转耐药的还有miR-193b^[40]. 其他的miRNA与肝癌耐药相关研究发现, 以MAPK信号通路中MAPK为靶基因的miR-122, 可以刺激ERK蛋白发生磷酸化, 促进索拉非尼对肝癌细胞凋亡作用^[41]. Meng等^[42]研究发现miR-29可以明显抑制肿瘤细胞生长和促进细胞凋亡, 并且与三氧化二砷具有协同作用, miR-29可以使PPMID基因编码的蛋白Wip-1表达降低, 而Wip-1在p53通路中有一定作用, 同时检测p53, 发现转染miR-29可以使p53上调, 而p53是一种促凋亡基因, 通过转染miR-29可以降低三氧化二砷用量, 这就为肝癌耐药的研究提供了思路. Meng等^[43]研究发现抑制miR-21, miR-200b能增加胆管癌细胞对吉西他滨的敏感性, 并且证实抑制miR-21可以阻断PTEN基因调控的PI3K/AKT信号通路, 从而促进吉西他滨诱导的细胞凋亡. Tomimaru等^[44]也研究发现, 在肝癌细胞和临床肝癌患者中, 转染miR-21的反义寡核苷酸后, 肝癌细胞对干扰素- α /5-FU联合剂的敏感性增加, 也说明了miR-21在肝癌耐药性方面起着重要的调控作用.

3.4 microRNAs与胰腺癌耐药 胰腺癌是消化系统恶性程度最高的肿瘤之一^[45]. 在我国, 胰腺癌的发病率和病死率呈逐年上升趋势. 由于miRNA调控的生物学变化是以靶基因的改变为目的, 因此, 往往同一个miRNA可以在肿瘤中对不同基因发挥调节作用, 例如: miR-21. miR-21可以作用于靶基因是PTEN, Ali等^[46]研究发现, 姜黄素类似物或姜黄素类似物联合吉西他滨用药能够增加吉西他滨相对不敏感型和耐药型胰腺癌细胞株的敏感性. 并且发现是通过增加miR-200和降低miR-21的表达来实现的. 其机制与PTEN基因调控的PI3K/AKT, 以及COX-2、VEGF、

NF- κ B的下调有关. 也有研究发现miR-21的靶基因是抗凋亡基因Bcl-2, 进一步研究证明miR-21通过直接作用于Bcl-2 mRNA的3'-UTR区而上调Bcl-2的表达, 以及抑制Bax和Caspase3的表达, 导致细胞耐药及抑制凋亡; 反义抑制miR-21的表达则增加了细胞的敏感性, 说明降低miR-21的表达可以逆转胰腺癌的耐药^[47]. Hwang等^[48]也研究发现, 通过5-FU配合放疗或吉西他滨配合放疗治疗胰腺癌细胞的研究发现, miR-21表达水平低的细胞株其IC₅₀显著低于高表达水平的细胞株, 通过反义抑制miR-21的表达, 可以提高5-FU对化疗的敏感性, 但是作用的靶基因有待于进一步研究. 同一个miRNA对不同基因发挥调节作用也发生在miR-200和let-7中. Li等^[49]研究了miR-200和let-7在吉西他滨耐药的胰腺癌细胞中对上皮细胞间充质转化的影响, 结果表明, miR-200b、miR-200c和let-7在吉西他滨耐药的胰腺癌细胞中表达显著下调, 恢复miR-200b和miR-200c的表达后能够增加吉西他滨化疗的敏感性, 并且发现是通过E-钙黏蛋白表达的升高, 以及波形蛋白和ZEB1表达的降低来实现的.

3.5 microRNAs与食管癌耐药 食管癌是常见的易导致死亡的肿瘤之一, 有文献指出miRNA的异常表达与食管癌化疗耐药相关. 有研究证实miR-27a与食管鳞癌细胞对P-gp相关药物的敏感性相关, 伴随阿霉素蓄积的增多和释放减少, 可促进阿霉素诱导凋亡的作用, 下调miR-27a可明显降低P-gp、Bcl-2的表达, 上调Bax表达, 使Bcl-2/Bax比值降低, 促进药物介导的凋亡, 减少MDR1基因的转录, 并逆转食管鳞癌细胞耐药^[50]. 也有研究^[51]显示, miR-21在食管鳞癌组织中过表达, 抗miR-21转染后, 可抑制细胞的增殖和侵袭能力, 抑制miR-21的表达可增加肿瘤细胞对抗癌药物的敏感性, 说明化疗加抑制miR-21的表达较单一化疗效果好, 但机制有待进一步的研究.

4 结论

近年来, 人们对miRNA的基本生物学特性和功能有了初步的了解, 特别是对miRNA的作用机制和在恶性肿瘤中的应用前景也取得了很大的进展. 许多实验已经证实, miRNA在肿瘤细胞生物学及对抗肿瘤药物的敏感性及耐受性中发挥重要作用. 但是, 到目前为止许多与肿瘤MDR相关的miRNA还未被发现, 功能还不清楚, 有关其表达调节的研究也不全面. 另外, 某些miRNA

■创新盘点

本文对多种microRNAs在各种消化系统肿瘤的普通型与耐药型的异常表达以及这些microRNAs对其作用的机制做一综述, 为进一步探究microRNAs如何调控并逆转消化系统肿瘤的MDR提供新的着眼点.

■应用要点

microRNAs在调控消化系统肿瘤MDR中起重要的作用,本文可以为研究者在microRNAs分子水平探讨肿瘤MDR的机制提供新的思路 and 手段。

可以同时调控2个或2个以上的基因的表达,或者一个基因可能受到多个miRNA的影响,这种复杂的网状结构也给miRNA的研究带来许多不确定性。但是随着医学科学的发展以及分子生物学、基因技术的提高,相信在未来的医学领域,一定可以找到更多的研究miRNA和肿瘤耐药关系的方法。如提高miRNA检测的灵敏度和特异性,准确预测miRNA的靶基因等,这样就能更深入地研究miRNA和肿瘤耐药的关系。在临床研究中,可以利用对miRNA表达谱的分析为临床提供更准确的诊断和预测,特异有效地将miRNA模拟物或抑制剂转入化疗耐受的患者体内等。相信通过这一系列问题的解决,必将大大拓展microRNAs在逆转肿瘤耐药中的作用。

5 参考文献

- Jäeger W. Classical resistance mechanisms. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2009; 47: 46-48 [PMID: 19203536]
- 丁旭贝, 陈爱军. 大肠癌多药耐药机制的研究进展. *西部医学* 2010; 22: 1726-1728
- Brown R. The bcl-2 family of proteins. *Br Med Bull* 1997; 53: 466-477 [PMID: 9374031 DOI: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a011624]
- 潘有光, 赵健. microRNA与肿瘤耐药机制的研究进展. *实用医学杂志* 2012; 28: 673-675
- Kawasaki K, Watanabe M, Sakaguchi M, Ogasawara Y, Ochiai K, Nasu Y, Doihara H, Kashiwakura Y, Huh NH, Kumon H, Date H. REIC/Dkk-3 overexpression downregulates P-glycoprotein in multidrug-resistant MCF7/ADR cells and induces apoptosis in breast cancer. *Cancer Gene Ther* 2009; 16: 65-72 [PMID: 18654608 DOI: 10.1038/cgt.2008.58]
- Gu F, Ma Y, Zhang Z, Zhao J, Kobayashi H, Zhang L, Fu L. Expression of Stat3 and Notch1 is associated with cisplatin resistance in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 23: 671-676 [PMID: 20127005]
- 殷楚云, 王颖超. 肿瘤多药耐药机制的研究进展. *国际儿科学杂志* 2011; 38: 595-598
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]
- He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 522-531 [PMID: 15211354 DOI: 10.1038/nrg1379]
- Ambros V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing. *Cell* 2003; 113: 673-676 [PMID: 12809598 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00428-8]
- Carrington JC, Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development. *Science* 2003; 301: 336-338 [PMID: 12869753 DOI: 10.1126/science.1085242]
- 吴孟超, 吴在德, 黄家驷. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1558
- 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2011; 20: 162-169
- 左静, 陈勇, 刘颖, 高鸿, 刘巍. 胃癌SGC7901/DDP细胞microRNA的表达谱分析及其在耐药逆转中的作用. *基础医学与临床* 2012; 32: 42-48
- Xia L, Zhang D, Du R, Pan Y, Zhao L, Sun S, Hong L, Liu J, Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer* 2008; 123: 372-379 [PMID: 18449891 DOI: 10.1002/ijc.23501]
- Zhu W, Zhu D, Lu S, Wang T, Wang J, Jiang B, Shu Y, Liu P. miR-497 modulates multidrug resistance of human cancer cell lines by targeting BCL2. *Med Oncol* 2012; 29: 384-391 [PMID: 21258880 DOI: 10.1007/s12032-010-9797-4]
- Zhu W, Shan X, Wang T, Shu Y, Liu P. miR-181b modulates multidrug resistance by targeting BCL2 in human cancer cell lines. *Int J Cancer* 2010; 127: 2520-2529 [PMID: 20162574 DOI: 10.1002/ijc.25260]
- 智慧, 朱伟, 王同杉, 王建, 束永前, 刘平. MiR-125b靶向抑制BCL2, MCL1表达对胃癌SGC7901/VCR细胞多药耐药性的影响. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2011; 31: 777-782
- Ji Q, Hao X, Meng Y, Zhang M, Desano J, Fan D, Xu L. Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumorspheres. *BMC Cancer* 2008; 8: 266 [PMID: 18803879 DOI: 10.1186/1471-2407-8-266]
- Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
- Hede K. Studies define role of microRNA in cancer. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1114-1115 [PMID: 16077067 DOI: 10.1093/jnci/dji260]
- Svoboda M, Izakovicova Holla L, Sefr R, Vrtkova I, Kocakova I, Tichy B, Dvorak J. Micro-RNAs miR125b and miR137 are frequently upregulated in response to capecitabine chemoradiotherapy of rectal cancer. *Int J Oncol* 2008; 33: 541-547 [PMID: 18695884]
- Xu K, Liang X, Cui D, Wu Y, Shi W, Liu J. miR-1915 inhibits Bcl-2 to modulate multidrug resistance by increasing drug-sensitivity in human colorectal carcinoma cells. *Mol Carcinog* 2013; 52: 70-78 [PMID: 22121083 DOI: 10.1002/mc.21832]
- Xu K, Liang X, Shen K, Cui D, Zheng Y, Xu J, Fan Z, Qiu Y, Li Q, Ni L, Liu J. miR-297 modulates multidrug resistance in human colorectal carcinoma by down-regulating MRP-2. *Biochem J* 2012; 446: 291-300 [PMID: 22676135 DOI: 10.1042/BJ20120386]
- To KK, Zhan Z, Litman T, Bates SE. Regulation of ABCG2 expression at the 3' untranslated region of its mRNA through modulation of transcript stability and protein translation by a putative microRNA in the S1 colon cancer cell line. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5147-5161 [PMID: 18573883 DOI: 10.1128/MCB.00331-08]
- Li J, Chen Y, Zhao J, Kong F, Zhang Y. miR-203 reverses chemoresistance in p53-mutated colon cancer cells through downregulation of Akt2 expression. *Cancer Lett* 2011; 304: 52-59 [PMID: 21354697 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.02.003]

- 28 Akao Y, Noguchi S, Iio A, Kojima K, Takagi T, Naoe T. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-FU in human colon cancer DLD-1 cells. *Cancer Lett* 2011; 300: 197-204 [PMID: 21067862 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.006]
- 29 Ragusa M, Majorana A, Statello L, Maugeri M, Salito L, Barbagallo D, Guglielmino MR, Duro LR, Angelica R, Caltabiano R, Biondi A, Di Vita M, Privitera G, Scalia M, Cappellani A, Vasquez E, Lanzafame S, Basile F, Di Pietro C, Purrello M. Specific alterations of microRNA transcriptome and global network structure in colorectal carcinoma after cetuximab treatment. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 3396-3409 [PMID: 20881268 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0137]
- 30 Valeri N, Gasparini P, Braconi C, Paone A, Lovat F, Fabbri M, Sumani KM, Alder H, Amadori D, Patel T, Nuovo GJ, Fishel R, Croce CM. MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 21098-21103 [PMID: 21078976 DOI: 10.1073/pnas.1015541107]
- 31 Rossi L, Bonmassar E, Faraoni I. Modification of miR gene expression pattern in human colon cancer cells following exposure to 5-fluorouracil in vitro. *Pharmacol Res* 2007; 56: 248-253 [PMID: 17702597 DOI: 10.1016/j.phrs.2007.07.001]
- 32 Kong Y, Bai PS, Sun H, Nan KJ, Chen NZ, Qi XG. The deoxycholic acid targets miRNA-dependent CAC1 gene expression in multidrug resistance of human colorectal cancer. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2321-2332 [PMID: 22903020 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.006]
- 33 童锦禄, 冉志华, 陈翔, 徐锡涛, 聂芳, 萧树东. 应用芯片技术筛查人结肠癌羟基喜树碱多药耐药相关微RNA的研究. *中华消化杂志* 2008; 28: 246-249
- 34 Chai H, Liu M, Tian R, Li X, Tang H. miR-20a targets BNIP2 and contributes chemotherapeutic resistance in colorectal adenocarcinoma SW480 and SW620 cell lines. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 217-225 [PMID: 21242194 DOI: 10.1093/abbs/gmq125]
- 35 Mader RM, Wieser M, Berger W, Kalipcian M, Hackl M, Steger GG, Grillari J. Relevance of microRNA modulation in chemoresistant colon cancer in vitro. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2011; 49: 67-68 [PMID: 21176732]
- 36 Xu Y, Xia F, Ma L, Shan J, Shen J, Yang Z, Liu J, Cui Y, Bian X, Bie P, Qian C. MicroRNA-122 sensitizes HCC cancer cells to adriamycin and vincristine through modulating expression of MDR and inducing cell cycle arrest. *Cancer Lett* 2011; 310: 160-169 [PMID: 21802841 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.06.027]
- 37 Fornari F, Gramantieri L, Giovannini C, Veronese A, Ferracin M, Sabbioni S, Calin GA, Grazi GL, Croce CM, Tavolari S, Chicco P, Negrini M, Bolondi L. MiR-122/cyclin G1 interaction modulates p53 activity and affects doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells. *Cancer Res* 2009; 69: 5761-5767 [PMID: 19584283 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4797]
- 38 Fornari F, Milazzo M, Chicco P, Negrini M, Calin GA, Grazi GL, Pollutri D, Croce CM, Bolondi L, Gramantieri L. MiR-199a-3p regulates mTOR and c-Met to influence the doxorubicin sensitivity of human hepatocarcinoma cells. *Cancer Res* 2010; 70: 5184-5193 [PMID: 20501828 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0145]
- 39 Tsang WP, Kwok TT. Let-7a microRNA suppresses therapeutics-induced cancer cell death by targeting caspase-3. *Apoptosis* 2008; 13: 1215-1222 [PMID: 18758960 DOI: 10.1007/s10495-008-0256-z]
- 40 Braconi C, Valeri N, Gasparini P, Huang N, Taccioli C, Nuovo G, Suzuki T, Croce CM, Patel T. Hepatitis C virus proteins modulate microRNA expression and chemosensitivity in malignant hepatocytes. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 957-966 [PMID: 20103677 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2123]
- 41 Bai S, Nasser MW, Wang B, Hsu SH, Datta J, Kutay H, Yadav A, Nuovo G, Kumar P, Ghoshal K. MicroRNA-122 inhibits tumorigenic properties of hepatocellular carcinoma cells and sensitizes these cells to sorafenib. *J Biol Chem* 2009; 284: 32015-32027 [PMID: 19726678 DOI: 10.1074/jbc.M109.016774]
- 42 Meng XZ, Zheng TS, Chen X, Wang JB, Zhang WH, Pan SH, Jiang HC, Liu LX. microRNA expression alteration after arsenic trioxide treatment in HepG-2 cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 186-193 [PMID: 21175813 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06317.x]
- 43 Meng F, Henson R, Lang M, Wehbe H, Maheshwari S, Mendell JT, Jiang J, Schmittgen TD, Patel T. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines. *Gastroenterology* 2006; 130: 2113-2129 [PMID: 16762633]
- 44 Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Tomokuni A, Kobayashi S, Marubashi S, Takeda Y, Tanemura M, Umeshita K, Doki Y, Mori M. MicroRNA-21 induces resistance to the anti-tumour effect of interferon- α /5-fluorouracil in hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 2010; 103: 1617-1626 [PMID: 20978511 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605958]
- 45 Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29 [PMID: 14974761]
- 46 Ali S, Ahmad A, Banerjee S, Padhye S, Dominiak K, Schaffert JM, Wang Z, Philip PA, Sarkar FH. Gemcitabine sensitivity can be induced in pancreatic cancer cells through modulation of miR-200 and miR-21 expression by curcumin or its analogue CDF. *Cancer Res* 2010; 70: 3606-3617 [PMID: 20388782 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4598]
- 47 Dong J, Zhao YP, Zhou L, Zhang TP, Chen G. Bcl-2 upregulation induced by miR-21 via a direct interaction is associated with apoptosis and chemoresistance in MIA PaCa-2 pancreatic cancer cells. *Arch Med Res* 2011; 42: 8-14 [PMID: 21376256 DOI: 10.1016/j.arcmed.2011.01.006]
- 48 Hwang JH, Voortman J, Giovannetti E, Steinberg SM, Leon LG, Kim YT, Funel N, Park JK, Kim MA, Kang GH, Kim SW, Del Chiaro M, Peters GJ, Giaccone G. Identification of microRNA-21 as a biomarker for chemoresistance and clinical outcome following adjuvant therapy in resectable pancreatic cancer. *PLoS One* 2010; 5: e10630 [PMID: 20498843 DOI: 10.1371/journal.pone.0010630]
- 49 Li Y, VandenBoom TG, Kong D, Wang Z, Ali S, Philip PA, Sarkar FH. Up-regulation of miR-200 and let-7 by natural agents leads to the reversal of epithelial-to-mesenchymal transition in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69: 6704-6712 [PMID: 19654291 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 50 曹秀峰, 李苏卿. 微小RNA在食管癌诊断预后及治疗

■同行评价

本文系统地详细地介绍了近年来microRNAs调控消化系统肿瘤MDR的研究进展, 为消化系统肿瘤治疗的耐药问题提供了很好的思路和视野, 这些发现为肿瘤MDR的治疗提供了新的研究方向, 有一定的指导意义。

- 中的作用. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 161-164
- 51 Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, Sato N, Imamura Y, Nagai Y, Yoshida N, Toyama E, Hayashi N, Watanabe M, Baba H. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1915-1922 [PMID: 19276261 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2545]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

持续正加速度对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响

陈璐, 陈英, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静, 杨春敏

陈璐, 陈英, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静, 杨春敏, 安徽医科大学中国人民解放军空军总医院临床学院东楼消化科 北京市 100142

陈璐, 在读硕士, 主要从事航空航天与航海医学消化系统方面的研究。

全军十二五后勤科研计划基金资助项目, No. AKJ11J004

作者贡献分布: 陈璐与杨春敏对此文所作贡献均等; 此课题由杨春敏与陈璐设计; 研究过程由陈璐操作完成; 研究所用试剂及工具由陈英、范勤、韩全利及李静提供; 数据分析由陈璐与唐合兰完成; 本论文写作由陈璐完成。

通讯作者: 杨春敏, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 安徽医科大学中国人民解放军空军总医院临床学院东楼消化科. chunmyang@sina.com

电话: 010-66928142

收稿日期: 2013-04-10 修回日期: 2013-05-17

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Effect of persistent positive acceleration on the quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer

Lu Chen, Ying Chen, Qin Fan, Quan-Li Han, He-Lan Tang, Jing Li, Chun-Min Yang

Lu Chen, Ying Chen, Qin Fan, Quan-Li Han, He-Lan Tang, Jing Li, Chun-Min Yang, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Anhui Medical University, Beijing 100142, China
Supported by: the Military Scientific and Technological Project during the "Twelfth Five-year" Period, No. AKJ11J004

Correspondence to: Chun-Min Yang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Anhui Medical University, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. chunmyang@sina.com

Received: 2013-04-10 Revised: 2013-05-17

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of positive acceleration (+Gz) on gastric ulcer healing in rats and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: Thirty-two male SD rats were randomly and equally divided into a control group, a +5Gz exposure group, a +10Gz exposure group, and a +10Gz exposure plus KangFuXin solution group. Gastric ulcer was induced in rats with acetic acid. After 3 d, rats in the latter three groups were exposed to +Gz each other day for 1 wk

(four times in all, five minutes each time). The rats in the +10Gz exposure plus KangFuXin solution group were additionally gavaged with 2 mL of KangFuXin solution every day for 1 wk. Tissue and bloods samples were taken to detect the contents of prostaglandin E2 (PGE2) in the gastric mucosa and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in blood by radioimmunoassay and the content of nitric oxide (NO) in blood by nitrate reductase assay.

RESULTS: The higher +Gz, the thinner restored mucosa thickness and the more the number of cystically dilated glands. The contents of PGE2 in the gastric mucosa were significantly lower in the +10Gz exposure group than in the +5Gz exposure group, control group, and +10Gz exposure plus KangFuXin solution group ($3.438 \text{ pg/mL} \pm 0.908 \text{ pg/mL}$ vs $5.147 \text{ pg/mL} \pm 0.652 \text{ pg/mL}$, $6.986 \text{ pg/mL} \pm 0.743 \text{ pg/mL}$, $6.133 \text{ pg/mL} \pm 0.545 \text{ pg/mL}$, all $P < 0.01$). The contents of CGRP in blood were significantly lower in the +10Gz exposure group than in the +5Gz exposure group, control group, and +10Gz exposure plus KangFuXin solution group ($62.254 \text{ pg/mL} \pm 15.943 \text{ pg/mL}$ vs $78.333 \text{ pg/mL} \pm 11.290 \text{ pg/mL}$, $82.583 \text{ pg/mL} \pm 11.788 \text{ pg/mL}$, $78.455 \text{ pg/mL} \pm 12.645 \text{ pg/mL}$, all $P < 0.05$). The contents of NO in blood were significantly lower in the +10Gz exposure group than in the +5Gz exposure group, control group, and +10Gz exposure plus KangFuXin solution group ($44.773 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 6.858 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $47.783 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 2.847 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $53.806 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 9.272 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $53.853 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 7.372 \text{ } \mu\text{mol/L}$, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Positive acceleration delays gastric ulcer healing in rats, and treatment with KangFuXin Solution can improve the quality of ulcer healing.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acceleration; Peptic ulcer; Prostaglandin E2; Calcitonin gene-related peptide; Nitric oxide; Quality of ulcer healing

Chen L, Chen Y, Fan Q, Han QL, Tang HL, Li J, Yang CM.

■背景资料

消化性溃疡是消化系统的常见疾病,其同样是飞行员经常患有的疾病,在最近的关于飞行员住院疾病统计中,消化系统疾病位居前3位,以胃炎及胃溃疡为主。飞行员的工作环境特殊,会经受各种刺激,加速度是其中之一。在正加速度(+Gz)下,重力惯性力方向由头至足,与主要大血管平行,由于血液重量增加,各系统将受到影响,主要表现在一些组织器官的缺血、缺氧;除此之外,+Gz对机体是一种刺激,其可通过迷走神经调节内分泌功能。这两者对消化性溃疡的愈合影响重大。

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院; 郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

■研究前沿

研究在持续+Gz条件下, 消化性溃疡大鼠胃黏膜前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、血清降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、NO变化及其在溃疡愈合方面发挥的作用。

Effect of persistent positive acceleration on the quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(19): 1841-1846 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1841.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1841>

摘要

目的: 探讨正加速度(+Gz)对消化性溃疡模型大鼠的溃疡愈合的影响及其机制。

方法: 将32只♂SD大鼠随机分为对照组、+5Gz组、+10Gz组、和+10Gz+康复新液组, 每组8只。采用乙酸烧灼法建立大鼠胃溃疡模型, 造模后3 d加速度隔日处理1 wk, 每次持续5 min, 共4次。+10Gz+康复新液组同时予以康复新液2 mL灌胃1 wk, 1 wk后取其组织及血液标本。运用放射免疫法检测胃黏膜前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、血清降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP), 运用硝酸还原酶法检测血清一氧化氮(nitric oxide, NO)。

结果: 随+Gz值增高, 光镜下再生黏膜厚度变薄, 扩张腺体数目增多。大鼠胃黏膜PGE2含量对照组为6.986 pg/mL \pm 0.743 pg/mL, +5Gz组为5.147 pg/mL \pm 0.652 pg/mL, +10Gz组为3.438 pg/mL \pm 0.908 pg/mL, +10Gz+康复新液组为6.133 pg/mL \pm 0.545 pg/mL。+10Gz组较+5Gz组和对照组低($P<0.01$), 并且低于+10Gz+康复新液组($P<0.01$)。大鼠血清(CGRP)含量对照组为82.583 pg/mL \pm 11.788 pg/mL, +5Gz组为78.333 pg/mL \pm 11.290 pg/mL, +10Gz组为62.254 pg/mL \pm 15.943 pg/mL, +10Gz+康复新液组为78.455 pg/mL \pm 12.645 pg/mL。+10Gz组较+5Gz组和对照组低($P<0.05$), 并且较+10Gz+康复新液组低($t=-2.252, P<0.05$)。大鼠血清NO含量对照组为53.806 μ mol/L \pm 9.272 μ mol/L, +5Gz组为47.783 μ mol/L \pm 2.847 μ mol/L, +10Gz组为44.773 μ mol/L \pm 6.858 μ mol/L, +10Gz+康复新液组为53.853 μ mol/L \pm 7.372 μ mol/L。+10Gz组较+5Gz组和对照组低($P<0.05$), 并且较+10Gz+康复新液组低($t=-2.551, P<0.05$)。

结论: +Gz条件下, 溃疡愈合延迟; 康复新液灌胃可减轻胃黏膜的损伤, 促进溃疡愈合。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 加速度; 消化性溃疡; 前列腺素E2; 降钙素基因相关肽; 一氧化氮; 溃疡愈合质量

核心提示: 持续正加速度(+Gz)能够延迟消化性

溃疡的愈合, 降低溃疡的愈合质量。前列腺素E2(prostaglandin E2)、血清降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide)、NO属于胃肠肽, 调节消化系的运动和功能, 且已被证实消化性溃疡的愈合中发挥作用。三者的合成和分泌受到+Gz的影响, 这种影响延迟了溃疡的愈合, 本研究这种影响的性质。

陈璐, 陈英, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静, 杨春敏. 持续正加速度对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1841-1846 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1841.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1841>

0 引言

在航空航天医学中, 消化系统疾病是飞行员位居前三位的住院疾病种类^[1], 消化性溃疡是消化系统疾病常见疾病, 也是导致飞行员住院和停飞的常见原因。因本病停飞的人数占消化系统疾病停飞总人数的49.9%, 居首位^[2]。由于工作环境的特殊, 包括大气环境(如低压、低氧)、力学环境(如加速度)、温度环境(如高低温改变)等; 另外, 飞行员精神紧张、飞行疲劳、饮食不规律等, 两者都可能诱发或加重疾病。消化性溃疡病程长、复发率高, 对飞行工作负面影响大, 而且消化系溃疡并发出血、穿孔发生率高达15%-20%, 对飞行员工作安全造成危险, 并缩短其训练时间, 降低其战斗力。研究正加速度(+Gz)条件下影响消化性溃疡愈合的因素可降低飞行员停飞率及飞行工作的危险性。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁SPF级♂SD大鼠32只, 体质量200 g \pm 10 g, 购自中国军事科学研究所, 许可证号: SCXK-(军)-2007-004, 小动物离心机(由航空医学研究所提供), 动物手术器械, 戊巴比妥那(sigma公司), 庆大霉素(广州白云山天心制药股份有限公司), 100%乙酸(国药集团化学试剂有限公司), 10%甲醛溶液、抑肽酶、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)放射免疫分析试剂盒(北京华英生物技术研究所), 降钙素基因相关肽放免药盒(北京华英生物技术研究所), 一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 方法

1.2.1 分组: 本实验共32只♂SD大鼠, 随机分为A、B、C、D 4组, 设A组为对照组, B组为+5Gz

表 1 不同+Gz值暴露组的胃黏膜PGE2及血液CGRP、NO的含量 (mean ± SD)

	PGE2(pg/mL)	CGRP(pg/mL)	NO(μmol/L)
A组	6.986 ± 0.743	82.583 ± 11.788	53.806 ± 9.272
B组	5.147 ± 0.652 ^f	78.333 ± 11.290 ^e	47.783 ± 2.847 ^e
C组	3.438 ± 0.908 ^b	62.254 ± 15.943 ^b	44.773 ± 6.858 ^a
D组	6.133 ± 0.545 ^d	78.455 ± 12.645 ^c	53.853 ± 7.372 ^c

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs A组; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01, ^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs C组. CGRP: 血清降钙素基因相关肽; NO: 一氧化氮; PGE2: 前列腺素E2. A组: 对照组; B组: +5Gz组; C组: +10Gz组; D组: +10Gz+康复新液组.

■ 相关报道

持续+Gz下慢性胃溃疡的研究较少, 并且国内尚未报道.

组, C组为+10Gz组, D组为+10Gz+康复新液组, 每组8只, 分4个鼠笼饲养, 饲养条件相同, 室温保持在22℃±2℃, 12 h循环光照, 自由饮食.

1.2.2 造模: 参照Okabe造模方法^[3], 大鼠适应性饲养3 d, 体质量220 g±20 g. 禁食不禁水24 h后, 准备手术器械并用碘伏溶液表面消毒, 予以3%戊巴比妥按1.5 mL/kg腹腔注射麻醉大鼠, 麻醉后固定大鼠, 腹部剃毛, 常规消毒. 在剑突下1 cm处沿腹中线剪1.0-1.5 cm长切口打开腹腔, 暴露胃, 注意避免触破胃大弯处血管, 并使胃前壁平整, 用浸有100%乙酸直径0.5 cm的圆形滤纸贴于胃窦小弯(避开血管)两次, 每次30 s, 生理盐水棉球擦拭乙酸烧灼的胃壁, 以除去残留的乙酸, 再用大网膜覆盖在乙酸烧灼的胃壁处, 还纳胃于腹腔原处. 为避免腹腔粘连及感染, 采用庆大霉素及生理盐水腹腔冲洗. 最后用四号线缝合腹壁, 消毒缝合好的腹壁, 再用二号线缝合皮肤, 再次消毒. 手术后大鼠要注意保温, 苏醒后禁食不禁水8 h, 然后正常饮食. 手术后3 d每日观察大鼠切口愈合、活动及饮食情况.

1.2.3 加速度处理: 造模后3 d所有大鼠予以加速度处理, A组大鼠进行地面捆绑5 min, B组大鼠进行加速度+5Gz值旋转5 min, C组大鼠加速度+10Gz旋转5 min, D组大鼠加速度+10Gz旋转5 min, 每隔1 d同时间进行, 持续1 wk, 共4次. D组大鼠每日予以康复新液2 mL(大鼠剂量/人体剂量为20倍)灌胃, 持续1 wk.

1.2.4 采集标本: 1 wk后将大鼠禁食不禁水12 h并麻醉(麻醉方法同前), 打开腹腔, 用一次性采血针于腹主动脉处采集血标本, 并进行离心, 10℃条件下, 转速2000 r/min, 20 min后, 取上清液置于EP管中-80℃保存, 待测. 取出大鼠的胃, 沿胃大弯侧剪开, 用生理盐水冲洗胃内容物, 于纱布上展开、铺平, 沿溃疡旁边剪取0.5 cm×0.5 cm(小块)组织放入10%甲醛的EP管, 常温保存. 用刀片

刮取胃黏膜置于EP管中-80℃保存, 待测.

1.2.5 标本处理: 将浸泡于10%甲醛的组织按照常规梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 5 μm厚度连续切片, HE染色, 光镜观察并摄片. 采用放射免疫法测定胃黏膜PGE2及血清降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP), 按试剂盒说明步骤进行. 硝酸还原酶法测定血清NO, 按试剂盒说明书步骤进行.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD描述, 运用方差分析、*t*检验及相关性分析方法, *P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 胃溃疡周围黏膜组织光镜下病理形态 光镜下B组和C组较A组胃黏膜厚度明显变薄, 且腺体数目少, 排列不整齐, 腺体扩张数目增多, 炎性细胞浸润增多, 新生血管较少. C组与B组比较, 腺体进一步减少, 排列紊乱, 极不规则, 腺体扩张明显, 呈背靠背或共壁现象, 大量炎性细胞浸润. 而D组较C组腺体排列整齐, 虽有扩张, 但较轻, 且变异少(图1). 说明在+Gz暴露后, 溃疡的再生腺体成熟度差, 愈合延迟, 愈合质量差.

2.2 组织及血清学指标 C组较A组、B组的CGRP及NO含量低, 且差异有统计学意义(*P*<0.05), B组与A组的血清CGRP及NO含量差异无统计学意义, 3组的胃黏膜PGE2之间差异均有统计学意义. C组与D组比较, 两组的血清CGRP、NO及黏膜PGE2差异有统计学意义(*P*<0.05, 表1).

2.3 相关性分析 对血清CGRP、NO进行相关性分析, 两者无相关性(*P*>0.05).

3 讨论

消化性溃疡是消化系统最为常见疾病之一, 发病复杂, 其发病机制可总结为自身消化、幽门

应用要点

在研究+Gz条件下对飞行员消化性溃疡胃黏膜及血清指标的改变起到参考作用,为临床治疗提供理论依据。

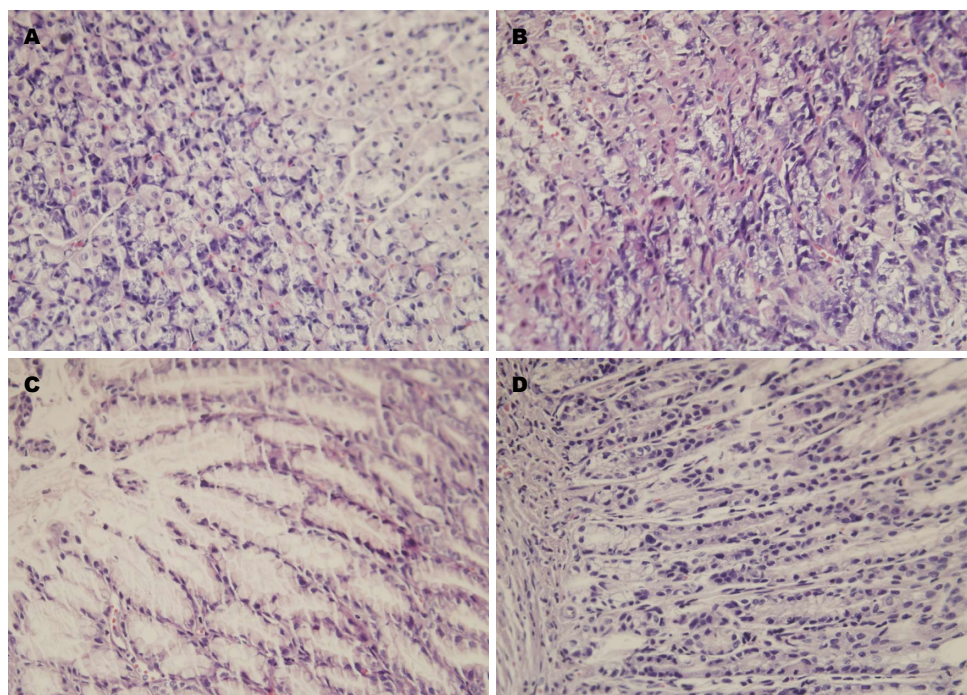


图1 不同+Gz值暴露后各组大鼠胃黏膜光镜下病理表现($\times 400$)。A组: 对照组; B组: +5Gz组; C组: +10Gz组; D组: +10Gz+康复新液组。

螺杆菌感染、保护因子与攻击因子的失衡、遗传易感性假说以及最近提出的内源性缩血管因子与扩血管因子失衡^[4],而这些机制有相同的作用点,就是胃肠黏膜微环境的障碍。已有研究证明神经内分泌系统对胃肠黏膜的保护和修复起到重要作用,体现在胃肠肽的分泌和调节上。胃肠肽是由位于胃肠黏膜的神经细胞分泌的具有保护胃肠黏膜及促进胃肠运动作用的肽类小分子,他们与胃肠道固有腺体分泌的物质合称为胃肠激素,共同参与胃肠功能的调节。因此消化性溃疡的愈合与胃肠激素相关。自Tarnawski等^[5]提出溃疡愈合质量,除了以往的对再生黏膜组织学成熟度评价,增加了再生黏膜功能成熟度的评价,因而成为消化性溃疡治愈的标准。本实验根据此标准研究+Gz暴露对溃疡愈合过程中组织学及功能的成熟度的影响。

在飞行过程中,高+Gz值下,重力惯性力作用方向从头至足,其导致组织及血液的移位,由此血液的分布改变可使胃黏膜出现缺血、缺氧,促进溃疡的发生,延迟溃疡的愈合^[6];而且在这种刺激引起的应激损伤过程中有大量氧自由基释放,破坏细胞膜及细胞内结构,可诱导和加重胃黏膜炎症反应。前列腺素是公认的胃黏膜保护因子。正常状态下,胃黏膜保护作用是通过内源性的PGs介导的增加胃黏膜血流量来实现,有研究发现外源性PGE2同样可以减轻胃黏膜损伤^[7],其通过抑制胃酸分泌,刺激胃蠕动,并促进黏液形成和糖蛋白分泌,进而加强机械屏障,避免胃黏膜的继续损伤^[8];另外PGE2能激活腺苷酸活化酶,增加细胞内cAMP含量,刺激上皮细胞的主动转运过程和细胞的生长、修复。本实验中随着+Gz增高,PGE2的含量降低,间接说明在+Gz条件下,胃黏膜的自身保护作用减弱,黏膜的修复功能低下,+10Gz+康复新液组与+10Gz组比较,PGE2含量高,说明在同样高+Gz值条件下,康复新液能促进溃疡愈合,从研究结果分析这种作用直接或间接与胃黏膜的PGE2含量增加有关。有研究^[9]用前列腺素受体基因敲除的小鼠证明弱刺激产生的前列腺素是通过诱导感觉神经释放CGRP来防御损伤的,而且依赖CGRP产生作用的不是PGE2,而是PGI2(prostaglandin I₂)。此次研究并未检测PGI₂,所以尚不能明确PGs产生作用的途径。

CGRP是通过分子生物学方法被人发现第一种胃肠肽,在消化系壁内神经丛的神经元和神经末梢中存在,是一种很强的胃酸分泌抑制剂,可抑制基础胃酸分泌和由组胺引起的酸分泌^[10],并能扩张血管增加胃黏膜血流量,从而起到保护胃黏膜和促进溃疡愈合的作用^[11]。有研究表明其可通过NO释放起到扩张血管作用,本实验通过对血清中两者的相关性分析,并未证实,考虑可能的因素有:(1)加速度的作用;(2)两者分泌的

在飞行过程中,高+Gz值下,重力惯性力作用方向从头至足,其导致组织及血液的移位,由此血液的分布改变可使胃黏膜出现缺血、缺氧,促进溃疡的发生,延迟溃疡的愈合^[6];而且在这种刺激引起的应激损伤过程中有大量氧自由基释放,破坏细胞膜及细胞内结构,可诱导和加重胃黏膜炎症反应。前列腺素是公认的胃黏膜保护因子。正常状态下,胃黏膜保护作用是通过内源性的PGs介导的增加胃黏膜血流量来实现,有研究发现外源性PGE2同样可以减轻胃黏膜损伤

时间并不同时,所以在同一份标本不能检测。

NO是重要的胃黏膜保护因子,由NO合成酶(nitric oxide synthase, NOS)合成。正常状态下,由钙依赖的原生型NO合成酶(constitutive nitric oxide synthase)催化精氨酸去氨基生成瓜氨酸和NO;在受到细胞因子刺激下,由非钙依赖的诱生型NO合成酶大量产生NO,通过发挥舒张内皮细胞扩张血管作用,增加胃黏膜血流量,起到保护作用^[12,13]。有研究将健康飞行员与健康地勤人员的血浆NO产物-亚硝酸盐(NO^2)比较发现飞行员的血浆 NO^2 较地勤人员明显减低^[14],间接说明了在长期飞行过程中NO的这种扩张血管作用是减弱的,从而其发挥促溃疡愈合的功能是降低的,与本实验结果一致。而且NO的这种促进消化性溃疡愈合的作用在临床中也得到证实^[15]。

+10Gz组较+5Gz组和对照组溃疡周边腺体形态异常,数目少,炎性细胞浸润明显,CGRP及NO含量低,说明+Gz暴露在胃溃疡的愈合过程中,影响腺体修复和再生,而且CGRP及NO的扩张血管增加胃黏膜血流量的作用减弱,溃疡愈合质量差。在+10Gz条件下,给予康复新液灌胃组大鼠血清较未给药组CGRP及NO含量高,说明康复新液能增加胃黏膜血流量,促进溃疡的修复。但是CGRP和NO这种增加胃黏膜血流量的作用途径并不明确,有实验采用吡啶美辛及L-NAME对照表明CGRP对胃肠道的作用主要是通过NO和前列腺素介导^[16]。有研究显示在疼痛感受器中PGE2能诱导CGRP合成^[17],还有学者提出NO保护胃黏膜的可能途径是通过调节内源性前列腺素(prostaglandins synthetase, PGs)^[18]。所以三者之间关系复杂,有待进一步的研究。

康复新液是由美洲大蠊干燥虫体的提取物制成的一种生物制剂,属于中成药,在临床中应用于消化性溃疡,可促进溃疡愈合,减少和预防溃疡的复发^[19,20]。本实验中,同样的Gz值条件下,康复新液组溃疡的再生黏膜组织学及功能成熟度较好,溃疡愈合质量高,适用于+Gz下溃疡的预防和治疗。

4 参考文献

- 1 周克亮,吴桂云,董燕,马金鹏,高燕. 1260例飞行人员住院疾病谱分析. 中华航空航天医学杂志 2012; 23: 34-37
- 2 张作明. 航空航天临床医学. 第1版. 西安: 第四军医大学出版社, 2005: 45
- 3 Okabe S, Pfeiffer CJ. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. *Am J Dig Dis* 1972; 17: 619-629 [PMID: 5032686 DOI: 10.1007/BF02231748]
- 4 Dudar GK, D'Andrea LD, Di Stasi R, Pedone C,

Wallace JL. A vascular endothelial growth factor mimetic accelerates gastric ulcer healing in an iNOS-dependent manner. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G374-G381 [PMID: 18583458 DOI: 10.1152/ajpgi.90325.2008]

- 5 Tarnawski A, Douglass TG, Stachura J, Krause WJ. Quality of gastric ulcer healing: histological and ultrastructural assessment. *Aliment Pharmacol Ther* 1991; 5 Suppl 1: 79-90 [PMID: 1888836]
- 6 白建乐,刘建平,张书金. 活血化瘀中药对乙酸致胃溃疡大鼠胃黏膜血流量的影响. 河北中医 2011; 33: 1058-1060
- 7 Brzozowski T, Konturek PC, Zwirska-Korczala K, Konturek SJ, Brzozowska I, Drozdowicz D, Sliwowski Z, Pawlik M, Pawlik WW, Hahn EG. Importance of the pineal gland, endogenous prostaglandins and sensory nerves in the gastroprotective actions of central and peripheral melatonin against stress-induced damage. *J Pineal Res* 2005; 39: 375-385 [PMID: 16207293 DOI: 10.1111/j.1600-079X.2005.00264.x]
- 8 Konturek SJ, Robert A. Cytoprotection of canine gastric mucosa by prostacyclin: possible mediation by increased mucosal blood flow. *Digestion* 1982; 25: 155-163 [PMID: 6761220 DOI: 10.1159/000198824]
- 9 Boku K, Ohno T, Saeki T, Hayashi H, Hayashi I, Katori M, Murata T, Narumiya S, Saigenji K, Majima M. Adaptive cytoprotection mediated by prostaglandin I(2) is attributable to sensitization of CRGP-containing sensory nerves. *Gastroenterology* 2001; 120: 134-143 [PMID: 11208722 DOI: 10.1053/gast.2001.20916]
- 10 Salomone S, Caruso A, Martinez G, Cutuli VM, Prato A, Bianchi A, Amico-Roxas M, Clementi G. Secretory and vascular effects of adrenomedullin in gastric ulcer: role of CGRP- and adrenomedullin-receptors. *Peptides* 2003; 24: 1175-1180 [PMID: 14612188 DOI: 10.1016/j.peptides.2003.06.006]
- 11 Evangelista S. Role of calcitonin gene-related Peptide in gastric mucosal defence and healing. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 3571-3576 [PMID: 19860701 DOI: 10.2174/138161209789207024]
- 12 Qui BS, Mei QB, Liu L, Tchou-Wong KM. Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 594-597 [PMID: 14966924]
- 13 Harty RF, Ancha HR, Xia Y, Anderson M, Jazsar A. GABAergic mechanisms of gastroprotection in the rat: role of sensory neurons, prostaglandins, and nitric oxide. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1875-1881 [PMID: 15628719 DOI: 10.1007/s10620-004-9586-z]
- 14 高连如,张宁坤,丁青艾,王志国,罗书海,许如意,陈宇,杨晔,唐朝枢. 飞行员血小板左旋精氨酸/一氧化氮合酶/一氧化氮通路的变化. 中华航空航天医学杂志 2007; 18: 196-200
- 15 罗成福. 消化性溃疡患者血SOD、NO及LOP水平变化研究. 中国当代医药 2010; 17: 9-10
- 16 雷银雪,湛先保,李兆申,许国铭. 应激状态下大鼠胃黏膜降钙素基因相关肽含量的动态变化及意义. 第二军医大学学报 2007; 28: 560-561
- 17 Ma W. Chronic prostaglandin E2 treatment induces the synthesis of the pain-related peptide substance P and calcitonin gene-related peptide in cultured sensory ganglion explants. *J Neurochem* 2010; 115: 363-372 [PMID: 20666934 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06927.x]
- 18 Mohan Kumar M, Joshi MC, Prabha T, Dorababu M, Goel RK. Effect of plantain banana on gastric ul-

■同行评价

本文设计合理,方法得当,结论可信,有一定的临床和预防实用意义。特别是对飞行员减少停飞以及疾病有一定价值。

- ceration in NIDDM rats: role of gastric mucosal glycoproteins, cell proliferation, antioxidants and free radicals. *Indian J Exp Biol* 2006; 44: 292-299 [PMID: 16629371]
- 19 袁芳, 李岚, 陈丽霞. 康复新液联合奥美拉唑治疗非甾

体类抗炎药相关性溃疡50例. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 124-125

翟兴红, 胡锦涛, 邓晋妹, 李帷, 张俊平. 康复新液联合三联疗法对消化性溃疡愈合质量的影响. 四川医学 2011; 32: 188-190

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

利用miRNA芯片分析酒精刺激肝癌细胞株miRNA表达谱的差异

桂照华, 汪心怡, 陈吉, 陈卓, 赵华, 汪思应

桂照华, 汪心怡, 陈吉, 陈卓, 赵华, 汪思应, 安徽医科大学基础医学院 安徽省合肥市 230032

桂照华, 在读硕士, 主要从事肿瘤分子机制的研究。

安徽省留学回国人员科研基金资助项目, No. 2009-2011

安徽省学术带头人基金资助项目

作者贡献分布: 桂照华与汪思应对此文所作贡献均等; 此课题由汪思应与桂照华设计; 研究过程主要由汪思应与桂照华操作完成; 汪心怡、陈吉、陈卓及赵华参与辅助工作; 数据分析由桂照华完成; 本论文写作由桂照华与汪思应完成。

通讯作者: 汪思应, 教授, 博士生导师, 230032, 安徽省合肥市蜀山区梅山路81号, 安徽医科大学基础医学院。

sywang@ahmu.edu.cn

收稿日期: 2013-04-26 修回日期: 2013-05-27

接受日期: 2013-06-04 在线出版日期: 2013-07-08

MiRNA expression profiling of alcohol-stimulated liver cancer cell lines using miRNA chips

Zhao-Hua Gui, Xin-Yi Wang, Ji Chen, Zhuo Chen, Hua Zhao, Si-Ying Wang

Zhao-Hua Gui, Xin-Yi Wang, Ji Chen, Zhuo Chen, Hua Zhao, Si-Ying Wang, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars of Anhui Province, No. 2009-2011; and the Discipline Leader Foundation of Anhui Province

Correspondence to: Si-Ying Wang, Professor, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, 81 Meishan Road, Shushan District, Hefei 230032, Anhui Province, China. sywang@ahmu.edu.cn

Received: 2013-04-26 Revised: 2013-05-27

Accepted: 2013-06-04 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To detect the miRNA expression profile in liver cancer cells induced with ethanol, and explore the molecular mechanisms behind abnormal expression of miRNAs and the growth and metastasis of ethanol-induced liver cancer cells.

METHODS: After cells were stimulated with 0.2% ethanol, total RNA was extracted from cancer cells, and the miRNA expression profiles were obtained using miRNA microarray chip hybridization. MiRNAs whose expression had significant difference was determined by RT-

PCR. TET protein expression was detected by Western blot.

RESULTS: There were multiple differentially expressed miRNAs in liver cancer cells induced with ethanol for 24 h. The expression of miRNA-29 family was up-regulated evidently. The results of RT-PCR were consistent with chip results. Western blot analysis showed that TET protein expression was decreased.

CONCLUSION: Stimulation with ethanol can lead to multiple changes of miRNA expression profiles in liver cancer cells, and these changes may influence the development and progression of liver cancer by causing changes in associated protein expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer; Alcohol; MiRNA

Gui ZH, Wang XY, Chen J, Chen Z, Zhao H, Wang SY. MiRNA expression profiling of alcohol-stimulated liver cancer cell lines using miRNA chips. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1847-1852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1847.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1847>

摘要

目的: 检测酒精刺激对肝癌细胞miRNA表达谱差异, 探讨异常表达的miRNA与酒精刺激诱导肝癌细胞生长转移的分子机制。

方法: 0.2%酒精刺激细胞培养, 提取总RNA, 在miRNA微阵列芯片中杂交检测, 通过芯片扫描和数据分析, 获得miRNAs表达谱, 筛选出表达差异明显者进行RT-PCR验证; Western blot检测TET蛋白的表达。

结果: 0.2%酒精处理肝癌细胞24 h后出现多个miRNAs的差异表达, 其中miRNA-29家族上升较为明显, RT-PCR验证得到与芯片相一致的结果, Western blot检测结果显示TET3蛋白表达下降。

■背景资料

酒精与肝癌的关系已得到确认, 但机制仍不明确。miRNA作为一类非编码单链RNA, 与多种疾病的发生、发展都密切相关, 尤其是根据其靶基因的不同在肿瘤的演变过程中扮演着类似于“癌基因”或者“抑癌基因”的作用。

■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

■ 研发前沿

酒精对肝脏的损伤是多方面的,目前多集中在酒精代谢产物对肝细胞的直接或者间接损伤上,但对于酒精导致的肝脏损伤在肝癌发生发展中起着作用的分子机制仍不明确。

结论: 酒精刺激可以导致肝癌细胞miRNAs表达谱出现多种差异性改变,这些改变可能会导致相关蛋白表达的改变从而影响肝癌的发生发展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝癌; 酒精; miRNA

核心提示: 酒精刺激可上调miR-29b/c表达,而下调的TET3蛋白的表达。

桂照华, 汪心怡, 陈吉, 陈卓, 赵华, 汪思应. 利用miRNA芯片分析酒精刺激肝癌细胞株miRNA表达谱的差异. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1847-1852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1847.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1847>

0 引言

肝细胞癌是常见的恶性肿瘤,其发病率位居人类肿瘤发病率的第2位,仅次于肺癌^[1].研究发现,其发病原因与肝炎病毒感染、机体内在因素、环境因素、生活习惯等密切相关^[2].其中长期饮酒与肝癌的发生发展的相关性已得到证实^[3].在研究酒精与肝癌关系进程中,虽然已取得很多成果但还有很多问题需要解决。

由19-25个核苷酸组成的,非编码的单链RNA被称为微小核糖核酸(microRNA).这类小RNA在表达上具有组织和时间的特异性,是调节其他功能基因表达的重要调控分子,在生物的生长发育过程中发挥着重要作用^[4].研究表明,多种microRNA参与肿瘤的恶性转变过程,如恶性增殖、复发转移、凋亡抑制等^[5,6].在本实验室前期的研究中发现,酒精刺激HepG2细胞后影响细胞的生长和转移,因此本实验利用miRNA微阵列分子技术重点探讨了酒精刺激HepG2细胞后是否是通过影响miRNA的表达影响了细胞的生长和转移。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞HepG2由本实验室保存.胎牛血清(FBS)由灏洋公司生产,DMEM培养基由Gibco公司生产.无水乙醇购自Sigma公司.总RNA提取试剂、TRIzol购自Invitrogen公司.RT-PCR试剂盒购自上海吉玛公司,引物由上海吉玛公司合成。

1.2 方法

1.2.1 酒精刺激细胞培养: 人类肝癌细胞HepG2

用含10%胎牛血清、0.5 ng/mL白介素-3(interleukin-3, IL-3) DMEM培养液, 100 U/mL链霉素/100 U/mL青霉素, 37 °C、5%CO₂条件下一定湿度孵箱中培养.待细胞贴壁后,加入无水乙醇,占培养液体积比0.2%.然后将培养皿置入体积为2200 mL容器中,容器内加入200 mL灭菌后超纯水和400 μL无水乙醇(0.2%),注入100 mL CO₂,密封容器,置入孵箱,使细胞保持在0.2%乙醇及一定湿度的稳定环境中培养。

1.2.2 细胞总RNA提取: 采用Invection公司的RNAVzol试剂.细胞经胰酶消化, PBS洗涤一次,调整细胞数量为1×10⁶/mL转移至EP管中,加入1 mL TRIzol试剂,具体步骤按照说明书操作,所得总RNA用紫外分光光度计测纯度及浓度,分装后-80 °C冰箱保存。

1.2.3 miRNA基因芯片分析: 将提取的酒精刺激组总RNA及对照组总RNA送至上海吉玛公司检测miRNA表达谱差异。

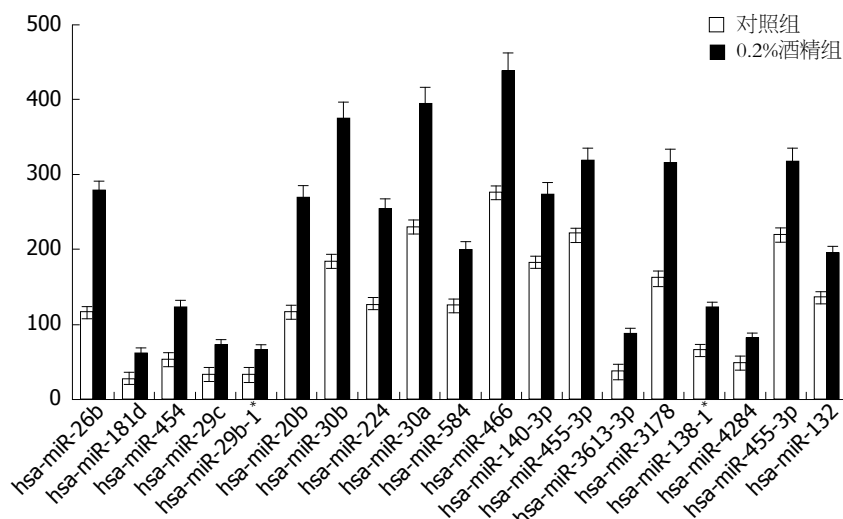
1.2.4 反转录: PC(RT-PCR)验证芯片结果: 按照上海吉玛公司的试剂盒说明书进行操作. MiR-RT primers引物、2 μL总RNA、4 μL RT Buffer、0.75 μL dNTP、0.2 μL AMV、DEPC水配成20 μL反应体系,反应条件: 16 °C 30 min, 42 °C 30 min, 85 °C 10 min.将反转录产物稀释3-4倍作为模板作PCR反应,以U6为内参对照,反应条件为: 99 °C 预变性1 min, 95 °C 3 min, 95 °C 12 s, 62 °C 50 s, 40个循环. 5%TAE琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物。

1.2.5 蛋白质免疫印迹法检测TET蛋白的表达: 酒精处理细胞24 h后收集细胞, PBS洗3遍,加入RIPA(含蛋白酶抑制剂)裂解,冰上裂解30 min, 4 °C 12000 g离心20 min,吸取上清液,加入5×loading buffer, 99 °C加热10 min,分光光度计定量后10%SDS-PAGE分离样本, 200 mA转到PVDF膜上, 5%脱脂奶粉(TBST配制)室温封闭2 h, TET3蛋白一抗按照1:1000稀释, 4 °C过夜, HRP标记的二抗按照1:5000稀释, ECL显色系统检测目的蛋白。

统计学处理 实验结果采用SPSS20.0软件分析,上述实验均重复3次,实验数据以mean±SD表示,组间差异比较采用t检验, P<0.05表示有统计学意义。

2 结果

2.1 酒精刺激影响肝癌细胞miRNA微阵列表达谱 miRNA微阵列芯片杂交结果显示: 与正常对



■ 相关报道

Friedberg等发现酒精代谢产物可以导致DNA的突变或缺失,从而导致肝癌发生:Gramantieri等发现miR-122a通过调节cyclin G1的表达影响肝癌的发生.这两篇文章分别揭示了酒精影响肝癌发生及miRNA影响肝癌发生的相关机制.

图 1 21个表达量升高1.5倍以上的microRNA.

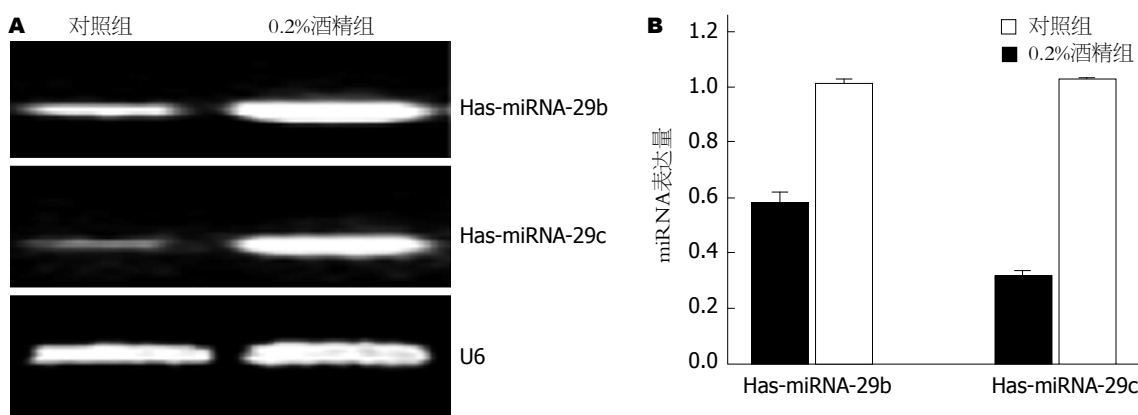


图 2 miRNA-29b/c在0.2%酒精组高表达. A: RT-PCR检测miRNA-29b/c的表达差异; B: RT-PCR实验结果的统计分析.

照组相比, 0.2%酒精刺激组miRNAs表达谱发生明显变化, 其中microRNA表达量显著升高的有21个, 其中miRNA-29家族上升较为明显(图1).

2.2 反转录PCR(RT-PCR)验证芯片结果 在对miRNAs表达谱进行分析的过程中发现miRNA-29家族成员中的miRNA-29c及miRNA-29b同时上升达1.5倍以上, 随后我们利用RT-PCR技术验证得到与芯片结果相一致(图2).

2.3 Western blot检测TET蛋白表达 利用生物学信息预测结果发现, TET3 3' UTR区存在多个与miR-29b/c互补结合的核苷酸位点(表1), 提示TET3有可能是miR-29b/c的潜在靶基因. 为了进一步明确TET3与miR-29b/c的关系, 我们利用Western blot检测TET3蛋白的表达情况, 发现酒精处理组TET3蛋白的表达显著下降(图3).

3 讨论

长期饮酒是多种疾病的致病因素, 如糖尿病、

精神疾病、心血管疾病、肝肠胰腺疾病等, 其中对肝脏的损伤尤为明显, 因而逐渐成为人们研究的热点^[7]. 酒精对肝脏的损害是多方面的, 一方面肝脏作为酒精的代谢场所可造成对肝细胞的直接损伤, 另一方面酒精的多种代谢产物可造成对肝脏的间接损伤, 其中乙醛及其代谢产物4-羟壬烯醛(4-hydroxy-2-nonenal)、丙二醛(malonaldehyde)可以导致DNA的突变或缺失^[8]. 长期饮酒不仅增加肝癌发生的危险性, 而且可以促进肝癌的转移和侵袭^[9]. 因此, 研究酒精导致肝癌的分子机制具有重要的现实意义.

MicroRNA是一类保守的, 长度约为19-25 nt的非编码单链小RNA, 通过与靶基因3'非编码区特异性的结合, 导致miRNA的降解或翻译抑制, 从而在转录后水平调控基因的表达^[10]. 目前已发现上千种miRNA, 这些miRNA调控着大约30%蛋白质的合成, 他们与人类的生长发育、干细胞分化与自我更新以及肿瘤、心血管疾病

■创新盘点

本文发现酒精刺激可导致多种miRNA的表达升高,尤其miRNA-29c及miRNA-29b的上升尤为明显,同时发现酒精刺激可导致TET3蛋白的表达下降。

表 1 miRNA-29b/c靶向TET3 3' UTR区域

预测的相应配对区域: 靶基因(上)和 miRNA (下)		种子序列
TET3 3' UTR 53-59	5' ... C C C G A G C U G U C U C U G U G G U G C U U ... 3'	
Has-miR-29b	3' ... U U G U G A C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 53-59	5' ... C C C G A G C U G U C U C U G U G G U G C U U ... 3'	
Has-miR-29c	3' ... A U U G G C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 4472-4479	5' ... A G G C U G C U U U U U A G U U G U G C U A ... 3'	
Has-miR-29b	3' ... U U G U G A C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 4472-4479	5' ... A G G C U G C U U U U U A G U U G U G C U A ... 3'	
Has-miR-29c	3' ... A U U G G C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 1471-1477	5' ... U U U G A A A U G A G A A U G U G G U G C U U ... 3'	
Has-miR-29b	3' ... U U G U G A C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 1471-1477	5' ... U U U G A A A U G A G A A U G U G G U G C U U ... 3'	
Has-miR-29c	3' ... A U U G G C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 3808-3815	5' ... A U A G U C U A A A U A A A A U G G U G C U A ... 3'	
Has-miR-29b	3' ... U U G U G A C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	
TET3 3' UTR 3808-3815	5' ... A U A G U C U A A A U A A A A U G G U G C U A ... 3'	
Has-miR-29c	3' ... U U G U G A C U A A A G U U U A C C A C G A U ... 5'	

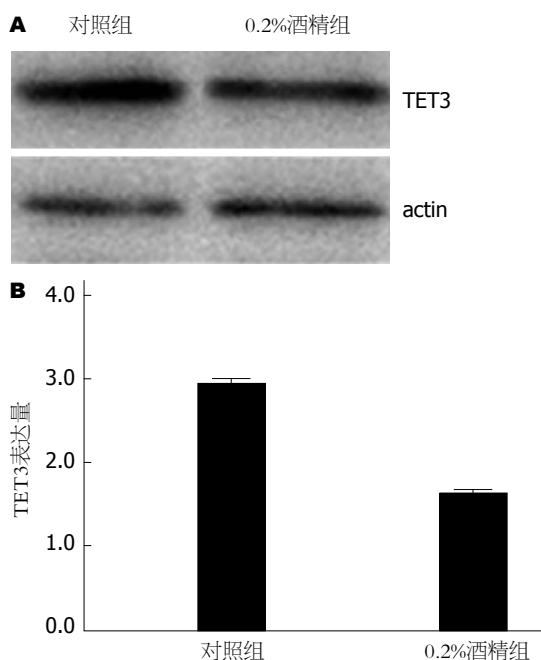


图 3 TET3蛋白在0.2%酒精组低表达. A: Western blot检测TET3蛋白的表达差异; B: Western blot实验结果统计分析.

等多种疾病密切相关,而在肿瘤演变过程中,这些miRNA扮演着尤其重要的角色^[11].近些年来随着对microRNA研究的深入,越来越多的研究

显示microRNA在肝癌组织中的异常表达,可能参与了肝细胞恶性生长和肝癌转移的病理过程. Meng等^[12]通过研究发现肝癌细胞中miR-21呈现高表达,通过下调PTEN的表达进而影响PI3K信号通路促进肝癌细胞的增殖和转移. Gramantieri等^[13]发现miR-122a通过调节靶基因*cyclinG1*的表达影响肝癌的发生.由此,我们想知道酒精导致肝脏损伤的过程是否也有microRNA的参与.

*TET*癌基因家族包括3个成员,分别为*TET1*、*TET2*和*TET3*,均属于 α -酮戊二酸和 Fe^{2+} 依赖的双加氧酶.3种TET蛋白表现出显著的显著的组织特异性,其中TET2在血液系统中含量较高,因此对其功能的研究多集中在血液系统.研究发现,TET蛋白基因突变或结构异常与造血系统恶性肿瘤密切相关^[14]. Lorschach等^[15]发现,在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者中存在TET1与组蛋白甲基转移酶MLL基因融合的现象. Abdel-Wahab等^[16]通过对多种血液肿瘤的3种TET蛋白测序发现,TET2在MPN中突变率为7.6%,慢性粒单核细胞白血病为42%,AML为12%,而TET1和TET3基本未见突变.在骨髓增生性疾病(myeloproliferative

disease)或骨髓增生性肿瘤(myeloproliferative, MPN)中存在包含TET2位点的染色体缺失或TET2缺失性纯合子突变^[17,18], 在MPN中TET2突变率可达到15%^[19]. 然而对于TET蛋白, 尤其是TET3在实体肿瘤中发挥的作用还不清楚.

本实验中, 我们首先利用0.2%乙醇刺激培养肝癌HepG2细胞, 利用microRNA芯片技术分析发现两组之间microRNA表达谱的差异显著, 酒精组microRNA表达量上调1.5倍以上的有21个, 其中miRNA-29家族中的miRNA-29c及miRNA-29b同时上升达1.5倍以上. 进一步利用RT-PCR验证发现miR-29b/c的表达与芯片结果相一致. 通过生物学信息的预测我们发现TET3蛋白有可能是miR-29b的靶基因, 我们利用Western blot方法检测TET蛋白的表达情况, 结果显示酒精刺激组TET3蛋白的表达明显下降. 以上实验结果提示我们, 酒精刺激可上调miR-29b/c表达, 而下调的TET3蛋白的表达, 二者之间呈现负相关的关系. 但是, miR-29b/c是否调控TET3蛋白的表达仍需要荧光素酶报告基因实验的来进一步证实.

4 参考文献

- 1 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
- 2 Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-538 [PMID: 16879891 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.013]
- 3 Lu Y, Cederbaum AI. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 723-738 [PMID: 18078827 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.004]
- 4 Swinkels-Meewisse IE, Roelofs J, Schouten EG, Verbeek AL, Oostendorp RA, Vlaeyen JW. Fear of movement/(re)injury predicting chronic disabling low back pain: a prospective inception cohort study. *Spine (Phila Pa 1976)* 2006; 31: 658-664 [PMID: 16540870]
- 5 Subramanian S, Steer CJ. MicroRNAs as gatekeepers of apoptosis. *J Cell Physiol* 2010; 223: 289-298 [PMID: 20112282 DOI: 10.1002/jcp.22066]
- 6 Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpenning M, Giuliano AE, Hoon DS. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer. *Clin Chem* 2011; 57: 84-91 [PMID: 21036945 DOI: 10.1373/clinchem.2010.151845]
- 7 Altekruse SF, McGlynn KA, Reichman ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1485-1491 [PMID: 19224838 DOI: 10.1200/JCO.2008.20.7753]
- 8 Friedberg EC, Wagner R, Radman M. Specialized DNA polymerases, cellular survival, and the genesis of mutations. *Science* 2002; 296: 1627-1630 [PMID: 12040171]
- 9 Mueller S, Millonig G, Seitz HK. Alcoholic liver disease and hepatitis C: a frequently underestimated combination. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3462-3471 [PMID: 19630099]
- 10 Nicoloso MS, Sun H, Spizzo R, Kim H, Wickramasinghe P, Shimizu M, Wojcik SE, Ferdin J, Kunej T, Xiao L, Manoukian S, Secreto G, Ravagnani F, Wang X, Radice P, Croce CM, Davuluri RV, Calin GA. Single-nucleotide polymorphisms inside microRNA target sites influence tumor susceptibility. *Cancer Res* 2010; 70: 2789-2798 [PMID: 20332227 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3541]
- 11 Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, Yoshimura A, Baltimore D, Rudensky AY. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010; 142: 914-929 [PMID: 20850013 DOI: 10.1016/j.cell.2010.08.012]
- 12 Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133: 647-658 [PMID: 17681183]
- 13 Gramantieri L, Ferracin M, Fornari F, Veronese A, Sabbioni S, Liu CG, Calin GA, Giovannini C, Ferrazzi E, Grazi GL, Croce CM, Bolondi L, Negrini M. Cyclin G1 is a target of miR-122a, a microRNA frequently down-regulated in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 6092-6099 [PMID: 17616664]
- 14 Langemeijer SM, Aslanyan MG, Jansen JH. TET proteins in malignant hematopoiesis. *Cell Cycle* 2009; 8: 4044-4048 [PMID: 19923888]
- 15 Lorschach RB, Moore J, Mathew S, Raimondi SC, Mukatira ST, Downing JR. TET1, a member of a novel protein family, is fused to MLL in acute myeloid leukemia containing the t(10; 11)(q22; q23). *Leukemia* 2003; 17: 637-641 [PMID: 12646957]
- 16 Abdel-Wahab O, Mullally A, Hedvat C, Garcia-Manero G, Patel J, Wadleigh M, Malinge S, Yao J, Kilpivaara O, Bhat R, Huberman K, Thomas S, Dolgalev I, Heguy A, Paietta E, Le Beau MM, Beran M, Tallman MS, Ebert BL, Kantarjian HM, Stone RM, Gilliland DG, Crispino JD, Levine RL. Genetic characterization of TET1, TET2, and TET3 alterations in myeloid malignancies. *Blood* 2009; 114: 144-147 [PMID: 19420352 DOI: 10.1182/blood-2009-03-210039]
- 17 Vigié F, Aboura A, Bouscary D, Ramond S, Delmer A, Tachdjian G, Marie JP, Casadevall N. Common 4q24 deletion in four cases of hematopoietic malignancy: early stem cell involvement? *Leukemia* 2005; 19: 1411-1415 [PMID: 15920487]
- 18 Jankowska AM, Szpurka H, Tiu RV, Makishima H, Aftab M, Huh J, O'Keefe CL, Ganetzky R, McDevitt MA, Maciejewski JP. Loss of heterozygosity 4q24 and TET2 mutations associated with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2009; 113: 6403-6410 [PMID: 19372255 DOI: 10.1182/blood-2009-02-205690]

■应用要点

本文为研究酒精导致肝癌分子机制的研究提供了一个新的方向.

■同行评价

本文利用miRNA芯片研究酒精刺激HepG2后miRNA表达谱的差异,对进一步了解酒精对肝脏的损害机制有一定的作用.

19 Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, Massé A, Kosmider O, Le Couedic JP, Robert F, Alberdi A, Lécluse Y, Plo I, Dreyfus FJ, Marzac C, Casadevall N, Lacombe C, Romana

SP, Dessen P, Soulier J, Viguié F, Fontenay M, Vainchenker W, Bernard OA. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 2009; 360: 2289-2301 [PMID: 19474426 DOI: 10.1056/NEJMoa0810069]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

光动力疗法促进胆管癌细胞QBC939的凋亡

姜海涛, 曹景玉, 韩瑞, 王云玲, 范友杰, 李衍彦, 隋爱华

姜海涛, 曹景玉, 韩瑞, 范友杰, 李衍彦, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科 山东省青岛市 266000

王云玲, 泰山医学院附属医院普外一科 山东省泰安市 271000

隋爱华, 青岛大学医学院附属医院中心实验室 山东省青岛市 266000

姜海涛, 硕士, 主要从事胆道肿瘤治疗方面的研究。

作者贡献分布: 姜海涛与曹景玉对此文所作贡献均等; 此课题由姜海涛设计, 曹景玉指导; 研究过程由姜海涛与韩瑞操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由姜海涛提供; 数据分析由姜海涛、王云玲、范友杰、李衍彦及隋爱华完成; 本论文写作由姜海涛、韩瑞及王云玲完成; 曹景玉指导。

通讯作者: 曹景玉, 副教授, 副主任医师, 266000, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科。

cjy7027@163.com

电话: 0532-82911369

收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-03-28

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

Photodynamic therapy promotes apoptosis of cholangiocarcinoma QBC939 cells

Hai-Tao Jiang, Jing-Yu Cao, Rui Han, Yun-Ling Wang, You-Jie Fan, Yan-Yan Li, Ai-Hua Sui

Hai-Tao Jiang, Jing-Yu Cao, Rui Han, You-Jie Fan, Yan-Yan Li, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Yun-Ling Wang, Department of General Surgery (Division I), the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, Taian 271000, Shandong Province, China

Ai-Hua Sui, Department of Central Lab, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Correspondence to: Jing-Yu Cao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266000, Shandong Province, China. cjy7027@163.com

Received: 2013-01-30 Revised: 2013-03-28

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of photodynamic therapy on cholangiocarcinoma QBC939 cell apoptosis.

METHODS: Cultured cholangiocarcinoma QBC939 cells were given different concentrations of hematoporphyrin derivatives and different light intensity. The relative growth inhibition

rate of QBC939 cells was detected by the CCK8 method. Flow cytometry assays were applied to determine the rate of QBC939 cell apoptosis. RT-PCR was used to detect transcriptional changes of proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Immunocytochemistry was used to measure the changes in protein expression of PCNA.

RESULTS: PDT inhibited QBC939 cell growth *in vitro*, and significant different A values between the PDT group and control group was observed (0.403 ± 0.027 vs 2.028 ± 0.013 , $P < 0.05$). When the concentration of HPD was 8 mg/L and the light irradiation was 5 J/cm², the relative growth inhibition rate of QBC939 cells was 80%. The increase in drug concentration or light dose did not significantly increase the growth inhibition rate. Flow cytometry assays showed that PDT could promote early apoptosis of QBC939 cells ($74.6\% \pm 1.5\%$). PDT could reduce the transcriptional changes of PCNA (0.68 ± 0.06) and down-regulated the expression of PCNA protein in QBC939 cell nuclei ($4.5\% \pm 1.4\%$).

CONCLUSION: PDT could inhibit QBC939 cell growth and promote early apoptosis of QBC939 cells. PDT induces QBC939 cell growth inhibition possibly by inhibiting PCNA gene and protein expression and promoting early apoptosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Photodynamic therapy; Cholangiocarcinoma; Proliferating cell nuclear antigen; Apoptosis

Jiang HT, Cao JY, Han R, Wang YL, Fan YJ, Li YY, Sui AH. Photodynamic therapy promotes apoptosis of cholangiocarcinoma QBC939 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1853-1858 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1853>

摘要

目的: 研究光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)对人胆管癌细胞QBC939凋亡的影响。

方法: 体外培养人胆管癌QBC939细胞株, 用不同浓度血卟啉衍生物(hematoporphyrin

■背景资料

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是目前用于恶性肿瘤辅助治疗的一种新方法, 近年来研究显示其作用机制与抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡有关, 但其诱导细胞凋亡的确切机制目前尚未完全阐明。

■同行评议者

葛海燕, 教授, 同济大学附属第十人民医院普外科

■ 研发前沿

PDT的分子机制是当前研究的热点。PCNA在许多肿瘤组织中高表达,肿瘤细胞增殖越活跃,PCNA表达越高。抑制PCNA的表达可能是肿瘤治疗的一种有效的方法。

derivative, HPD)处理,并用半导体激光治疗仪不同强度光照后,采用CCK8法检测PDT对QBC939细胞的相对抑制率;应用流式细胞仪检测PDT作用前后QBC939细胞的凋亡率;RT-PCR检测PDT作用前后QBC939细胞中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)基因表达情况;SP免疫细胞化学法测定PDT作用前后QBC939细胞核中PCNA的表达情况。

结果: CCK8检测结果显示PDT在体外能够抑制胆管癌QBC939细胞生长, 8 mg/L HPD经5 J/cm²光照时实验组吸光度(A)值(0.403±0.027)与对照组A值(2.028±0.013)有统计学差异($P<0.05$), 细胞生长抑制率达80%, 继续增加药物浓度或光照强度, 细胞生长抑制率升高不明显, 差异无统计学意义; 流式细胞技术检测显示PDT能够明显促进胆管癌QBC939细胞的早期凋亡(74.6%±1.5%); RT-PCR检测显示PDT能够明显抑制胆管癌QBC939细胞中PCNA基因表达(0.68±0.06); SP免疫细胞化学结果显示PDT能够明显抑制胆管癌QBC939细胞核中PCNA蛋白表达(4.5%±1.4%)。

结论: PDT能够抑制胆管癌QBC939细胞生长, 促进QBC939细胞的早期凋亡。PDT对QBC939细胞生长的抑制作用可能是通过抑制QBC939细胞的PCNA基因和蛋白水平的表达, 从而促进其早期凋亡实现的。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 光动力疗法; 胆管癌; 增殖细胞核抗原; 凋亡

核心提示: 光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)能够抑制胆管癌QBC939细胞生长, 促进QBC939细胞的早期凋亡。PDT对QBC939细胞生长的抑制作用可能是通过抑制QBC939细胞的增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)基因和蛋白水平的表达, 从而促进其早期凋亡实现。

姜海涛, 曹景玉, 韩瑞, 王云玲, 范友杰, 李衍彦, 隋爱华. 光动力疗法促进胆管癌细胞QBC939的凋亡. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1853-1858 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1853>

0 引言

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是目前用于恶性肿瘤辅助治疗的一种新方法, PDT过程中存在大量的信号调节分子, 其具体机制尚不明确^[1,2]。近年来研究显示其作用机制与抑

制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡有关, 但其诱导细胞凋亡的确切机制目前尚未完全阐明。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)是目前应用最广的用于检测肿瘤细胞增殖活性的指标, 能与DNA多聚酶辅助蛋白结合, 调控并参与细胞DNA的复制, 其表达水平与肿瘤细胞增殖、浸润、转移等有关, 已经在肝癌、胃肠道肿瘤等组织中得到证实^[3,4]。有研究证实, 抑制PCNA的表达能够抑制肿瘤细胞的增殖, 提高凋亡指数^[5], 促进肿瘤细胞的凋亡。本实验通过PDT检测对人胆管癌细胞QBC939凋亡的影响, 并通过RT-PCR和免疫细胞化学检测PDT前后人胆管癌QBC939细胞中PCNA的表达变化情况, 以期对PDT的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人胆管癌细胞系QBC939由第三军医大学西南医院王曙光教授建系, 购自上海中科院细胞库; 半导体激光治疗仪; 倒置显微镜(型号IX50, 品牌Olympus); 流式细胞仪; PCR仪(型号EP384, 生产厂家Eppendorf); 低温冷冻离心机(型号3K30, 生产厂家Sigma); 凝胶成像系统(生产厂家Vilber Lourmat); 酶标测试仪; 血卟啉衍生物购自重庆华鼎现代生物制药公司; RPMI 1640培养基、胰蛋白酶购自Gibco公司(美国); 胎牛血清购自Hyclone公司(美国); CCK8试剂盒购自同仁化学研究所(日本); 凋亡试剂盒购自Invitrogen公司(美国); PCNA、hGAPDH引物购自生工生物工程(上海)股份有限公司; RT-PCR试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司; 兔抗人PCNA多克隆抗体购自Abcam公司(美国); 免疫组织化学染色试剂盒、DAB染色试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司; 改良型苏木素购自康为世纪公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和CCK8实验: 胆管癌QBC939细胞贴壁生长于完全型RPMI 1640培养基(含10%胎牛血清, 青霉素100 U/mL, 链霉素100 mg/mL)中, 于37℃、5%CO₂饱和湿度恒温培养箱中培养传代, 每48-72 h传代1次, 选取对数生长期的胆管癌QBC939细胞进行CCK8实验, 约6×10³/孔接种于96孔板, 24 h后弃细胞培养上清液并分组。用不同强度的光照和不同浓度的血卟啉衍生物(hematoporphyrin derivative, HPD)联合作用于胆管癌细胞进行实验, 分别加入含0、2、4、6、8、10、12、14 μg/mL HPD浓度的培

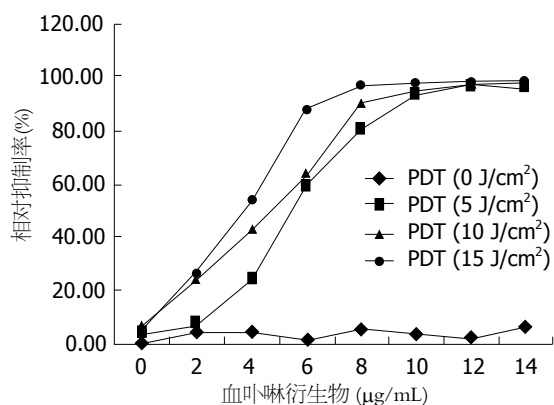


图1 光动力疗法对细胞生长抑制率影响. PDT: 光动力疗法.

养液, 每个HPD浓度设3个复孔, 24 h后分别选取0、5、10、15 J/cm²的光照强度给予光照, 光波长630 nm, 更换含有10%胎牛血清的培养液培养48 h后进行CCK8实验, 在波长450 nm的分光光度仪中检测各组细胞的A值, 观察PDT对胆管癌QBC939细胞生长的抑制作用, 并计算各组细胞的生长抑制率 = (A空白 - A实验) / A空白 × 100%.

1.2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡率: 选取对数生长期的胆管癌QBC939细胞制成细胞悬液后, 约 2×10^5 /孔接种于6孔板, 培养12 h后分组, 选取CCK8实验中的最佳HPD-PDT参数做为实验组, 另设单纯光照组、单纯光敏剂组和空白对照组, 更换不含血清的培养液培养24 h, 给予光照后更换含有10%胎牛血清的培养液再继续培养24 h, 用胰酶消化后离心制成细胞悬液, 调整细胞浓度约 1×10^5 /mL, 样品管中加入100 µL的AnnexinV Binding buffer细胞悬液; 再加入5 µL Alexa Fluor 488 av混匀后, 加入1 µL Propidium Iodide, 混匀, 避光, 室温反应15 min, 使其充分染色, 再加入400 µL AnnexinV Binding buffer, 1 h内上机检测细胞凋亡率.

1.2.3 RT-PCR半定量测定PCNA mRNA表达: 依据上述实验的分组, 以 2.0×10^5 /孔接种于6孔板进行细胞培养, 实验处理后分别提取各组细胞的mRNA, 逆转录的cDNA作为模板, PCNA上游引物序列为5'-AAGCACCAAACAG-GAGAAAGT-3'; 下游引物序列为5'-ACCGTT-GAAGAGAGTGGAGTG-3'. hGAPDH基因上游引物序列为5'-AACAGCCTCAAGATCAT-CAGCAA-3'; 下游引物序列为5'-GACTGTG-GTCATGAGTCCCTTCCA-3'. 模板cDNA 1 µL, 上下游引物各1 µL, Premix 11.5 µL, 双蒸水5.5 µL构建20 µL体系分别进行PCR扩增, PCNA反应

链为: 95 °C 5 min预变性, 98 °C 10 s变性, 63.9 °C 30 s退火, 72 °C 30 s延伸, 72 °C 10 min终止延伸, 30个循环. 将扩增的产物在2%琼脂糖凝胶、0.5 × TAE缓冲液中电泳, 电压120 V, 时间约30 min, 紫外凝胶成像系统拍照, 图像分析软件分析电泳条带灰度值, 计算各组mRNA表达的相对强度 = 目的条带灰度值/hGAPDH条带灰度值.

1.2.4 SP法免疫细胞化学染色测定PCNA在细胞核中的表达: 依据上述实验的分组进行细胞爬片, 将细胞悬液按 2.0×10^5 /孔的细胞数接种于6孔板进行细胞培养, 经PDT实验处理后, 用4%中性甲醛固定, 依次加入兔抗人PCNA多克隆抗体和含有辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体, DAB染色3-10 min后再用苏木素复染, 倒置显微镜拍照后分析, 结果判定标准: 细胞核中出现棕黄色颗粒为阳性, 以着色强度和阳性细胞数所占比例综合判定: 无色或阳性细胞数<5%为(-), 浅黄色或阳性细胞数5%-25%为(+), 棕黄色或阳性细胞数25%-50%为(++), 棕色或阳性细胞数50%-75%(+++), 深棕色或阳性细胞数>75%为(+++).

统计学处理 所得计量资料均用mean ± SD表示, 数据使用SPSS17.0统计学软件进行单因素方差分析, 组间比较采用LSD *t*检验, 以 $P < 0.05$ 认为差异有显著性.

2 结果

2.1 PDT对QBC939细胞生长抑制率的影响 不同HPD浓度和光照强度下各组QBC939细胞的吸光度见表1, 对细胞生长抑制率的影响见图1, 当光照剂量达到5 J/cm², HPD浓度达到4 µg/mL时, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 但细胞生长抑制率仅24%. 当光照剂量达到5 J/cm², HPD浓度达到8 µg/mL时, 细胞生长抑制率达到80%, 继续增加药物浓度或光照剂量, 差异无显著性, 细胞存活率降低不明显. 因此, 我们将HPD 8 µg/mL、激光剂量5 J/cm²作为本实验的最佳参数.

2.2 PDT对QBC939细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果见图2, 空白对照组、单纯光敏剂组和单纯光照组凋亡发生率分别为33.4% ± 1.4%、41.0% ± 1.6%、37.2% ± 2.1%, 各组之间差异无统计学意义($P > 0.05$). 光动力实验组凋亡发生率为74.6% ± 1.5%, 与其余3组比较均有统计学差异($P < 0.05$).

2.3 PDT对QBC939细胞PCNA mRNA表达的影

■ 相关报道

有研究证实, PCNA能与DNA多聚酶辅助蛋白结合, 调控并参与细胞DNA的复制, 其表达水平与肿瘤细胞增殖、浸润、转移等有关, 已经在肝癌、胃肠道肿瘤等组织中得到证实, 抑制PCNA的表达能够抑制肿瘤细胞的增殖, 提高凋亡指数, 促进肿瘤细胞的凋亡.

■创新盘点

本研究主要基于CCK8和流式细胞技术检测了PDT对QBC939细胞生长增殖的影响,并通过RT-PCR和免疫细胞化学检测PDT对PCNA的表达的影响。

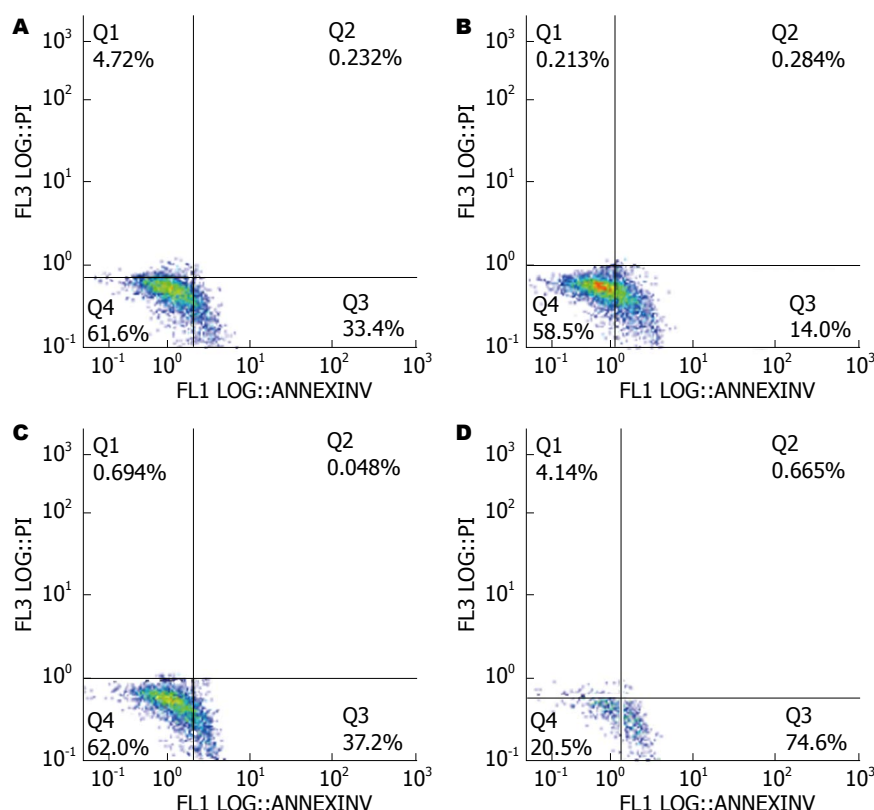


图2 光动力疗法对细胞凋亡率的影响。A: 空白对照组; B: 单纯光敏剂组; C: 单纯光照射组; D: 光动力实验组。

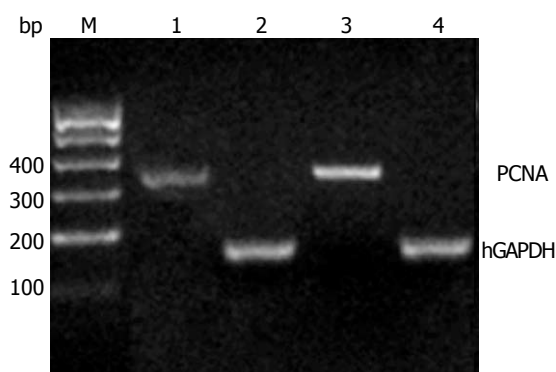


图3 光动力疗法对PCNA mRNA表达的影响。M: Marker; 1: 实验组PCNA; 2: 实验组hGAPDH; 3: 空白组PCNA; 4: 空白组hGAPDH。PCNA: 增殖细胞核抗原。

响 各组细胞提取的总mRNA在紫外分光光度计中检测, $A_{260/280}$ 的比值均在1.8-2.0之间。图3表明PCNA mRNA在人胆管癌QBC939细胞中的相对表达强度为 0.95 ± 0.08 。在8 mg/LHPD经5 J/cm²光照后, PCNA mRNA在人胆管癌QBC939细胞中的相对表达强度明显下降为 0.68 ± 0.06 。光动力实验组与空白对照组PCNA mRNA相对表达强度差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 PDT对QBC939细胞核中PCNA表达的影响 各组细胞核中出现黄色颗粒为阳性, 由图4

可见光动力实验组、单纯光照射组、单纯光敏剂组和空白对照组的PCNA染色强度分别为 $4.5\% \pm 1.4\%(-)$ 、 $30.5\% \pm 1.6\%(++)$ 、 $47.7\% \pm 1.2\%(++)$ 、 $52.5\% \pm 1.3\%(+++)$, 光动力实验组与空白对照组中PCNA的表达量有明显统计学差异($P < 0.05$)。

3 讨论

PDT是近年来肿瘤治疗领域中一项新技术, 是一种无创或微创性、非产热性、利用光化学反应引起靶组织和靶细胞破坏的临床辅助治疗方法。利用肿瘤组织对光敏剂的选择性摄入和浓集, 给予特定波长光照射激活肿瘤组织中的光敏剂而产生活性氧簇, 这些物质与肿瘤细胞中的分子和结构发生氧化反应而杀伤肿瘤细胞^[6-8], 而在正常组织中能迅速代谢, 在杀灭肿瘤细胞的同时减少对正常组织的损伤。

目前研究已知, PDT在体内抑制肿瘤生长的机制包括: 信号转导与诱导肿瘤细胞凋亡和坏死以及与自噬相关的细胞死亡、对肿瘤微血管的破坏和激发免疫及炎症反应等^[9,10]。PDT在体外也能够显著抑制肿瘤细胞生长^[11], 但其抑制胆管癌细胞生长的机制尚不清楚。本研究结

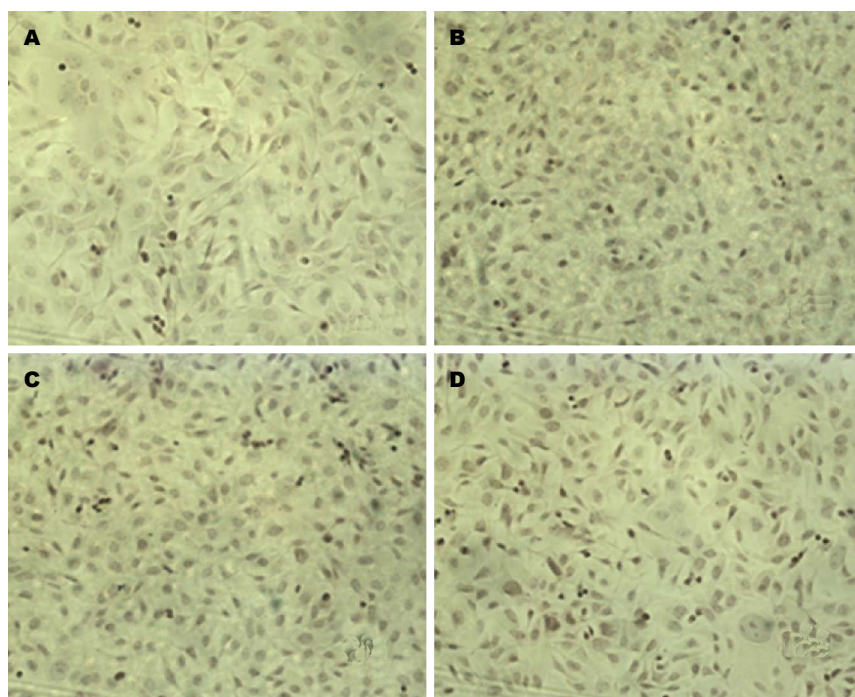


图 4 PCNA免疫细胞化学染色结果(SP, $\times 200$). A: 光动力实验组; B: 单纯光照射组; C: 单纯光敏剂组; D: 空白对照组.

■应用要点
针对PDT的进一步研究, 可能成为胆管癌治疗的一种新方法, 对于改善胆管癌患者的预后具有重要的意义.

表 1 CCK8检测各组细胞 A_{450} (mean \pm SD)

血卟啉衍生物($\mu\text{g/mL}$)	光照强度(J/cm^2)			
	0	5	10	15
0	2.028 ± 0.013	1.966 ± 0.016	1.899 ± 0.029	1.946 ± 0.008
2	1.944 ± 0.023	1.879 ± 0.047	1.531 ± 0.034^a	1.486 ± 0.060^b
4	1.946 ± 0.086	1.542 ± 0.021^a	1.157 ± 0.038^b	0.926 ± 0.025^b
6	1.994 ± 0.020	0.828 ± 0.032^b	0.728 ± 0.041^b	0.248 ± 0.036^b
8	1.912 ± 0.012	0.403 ± 0.027^b	0.191 ± 0.026^b	0.061 ± 0.020^b
10	1.958 ± 0.023	0.133 ± 0.012^b	0.091 ± 0.011^b	0.046 ± 0.018^b
12	1.991 ± 0.018	0.071 ± 0.022^b	0.043 ± 0.024^b	0.037 ± 0.019^b
14	1.909 ± 0.013	0.072 ± 0.060^b	0.036 ± 0.020^b	0.029 ± 0.032^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs $0 \mu\text{g/mL}$.

果显示, PDT在体外能够抑制胆管癌QBC939细胞生长, 不同HPD-PDT参数影响不同, 当PDT达到 5 J/cm^2 , HPD达到 $8 \mu\text{g/mL}$ 以上时能显著抑制QBC939细胞生长, 细胞生长抑制率达到80%以上, 并能明显促进QBC939细胞早期凋亡, 早期凋亡率为74.6%. 本实验表明, PDT能够通过诱导胆管癌细胞凋亡抑制细胞生长.

PCNA又称周期蛋白, 存在于细胞核内, 是DNA聚合酶 δ 、 ϵ 的辅酶, 合成及表达与细胞增殖密切相关, 是反映细胞增殖的主要生物学指标^[12,13], 在许多肿瘤组织中高表达, 肿瘤细胞增殖越活跃, PCNA表达越高^[14,15], 还可用于判断肿瘤的恶性程度及预后^[16,17]. 他协调DNA前导链和随从链的合成, 在细胞内的含量具有周期性, 在

G_0 期细胞内含量很少, G_1 晚期开始增加, S期达高峰, G_2 、M期明显下降, 在DNA复制、细胞增殖及细胞周期调控中发挥重要作用, PCNA的周期性变化与细胞增殖过程有关, 而肿瘤的发生与细胞凋亡受阻、过度增殖有关^[18,19], PCNA会和DNA多聚酶结合, 促进细胞进入S期, 使细胞过度增殖及癌变.

本实验从RT-PCR和免疫细胞化学层面检测PDT前后QBC939细胞中PCNA的表达变化情况, 结果显示PCNA在基因和蛋白水平相对表达量均明显降低, 表明PDT能够抑制PCNA表达, 可能进而诱导QBC939细胞凋亡, 起到抑制胆管癌QBC939细胞生长的作用. 有研究表明, 抑制PCNA的表达, 可延缓肿瘤细胞由 G_1 期向S

■同行评价

本文创新性较好, 实验结果达到论文设计的要求, 对结果的解释恰当、合理, 具有一定指导意义。

期的过渡, 从而减少S期细胞含量, 具体机制是PCNA-P21可以和多种CDK/cyclin形成四聚体^[14], 当PCNA表达被抑制时, CDK活性被抑制, 从而影响RB蛋白磷酸化和与之结合的转录因子的释放, 导致细胞不能通过G₁期检验点进入S期, 进而诱导细胞凋亡, 抑制细胞增殖。PCNA作为检测细胞凋亡的一个良好指标, 在肿瘤细胞凋亡过程中表达受到明显抑制^[20]。本研究显示PDT抑制了PCNA的表达, 推测PDT是通过干扰细胞周期诱导QBC939细胞凋亡。光动力作用促进胆管癌细胞QBC939凋亡是一个多基因参与调控的过程, 其确切机制较为复杂, 仍有待进一步研究。

4 参考文献

- Wainwright M. Photodynamic therapy: the development of new photosensitisers. *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8: 280-291 [PMID: 18393787 DOI: 10.2174/187152008783961888]
- Chekulayeva LV, Chekulayev VA, Shevchuk IN. Active oxygen intermediates in the degradation of hematoporphyrin derivative in tumor cells subjected to photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 2008; 93: 94-107 [PMID: 18760622 DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2008.07.003]
- Shen LJ, Zhang HX, Zhang ZJ, Li JY, Chen MQ, Yang WB, Huang R. Detection of HBV, PCNA and GST-pi in hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 459-462 [PMID: 12632497]
- Wang ZH, Wang CY, Liu XJ, Wang LG, Li M, Chen CZ. [Relationship between recurrence and metastasis of gastric cancer and expression of EGFR, IL-6R, PCNA, and DJ]. *Ai Zheng* 2002; 21: 785-789 [PMID: 12479108]
- 范凯, 王坚妹, 王朝辉. 胃癌中hMSH2、p53和PCNA表达的相关性和意义. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 654-656
- Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 380-387 [PMID: 12724736 DOI: 10.1038/nrc1071]
- Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, Moan J, Peng Q. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889-905 [PMID: 9637138 DOI: 10.1093/jnci/90.12.889]
- Henderson BW, Dougherty TJ. How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol* 1992; 55: 145-157 [PMID: 1603846 DOI: 10.1111/j.1751-1097.1992.tb04222.x]
- 徐畅, 姜小清. 光动力学原理及其在胆管癌治疗的应用. *中华普通外科学文献(电子版)* 2012; 6: 249-253
- 叶叶, 邹晓平. 胆管癌的光动力治疗相关研究. *国际消化病杂志* 2012; 32: 197-199
- Ferrario A, Fisher AM, Rucker N, Gomer CJ. Celecoxib and NS-398 enhance photodynamic therapy by increasing in vitro apoptosis and decreasing in vivo inflammatory and angiogenic factors. *Cancer Res* 2005; 65: 9473-9478 [PMID: 16230411 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1659]
- Zhang T, Wang SS, Hong L, Wang XL, Qi QH. Arsenic trioxide induces apoptosis of rat hepatocellular carcinoma cells in vivo. *J Exp Clin Cancer Res* 2003; 22: 61-68 [PMID: 12725324]
- Wang SS, Zhang T, Wang XL, Hong L, Qi QH. Effect of arsenic trioxide on rat hepatocellular carcinoma and its renal cytotoxicity. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 930-935 [PMID: 12717832]
- Maga G, Hubscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *J Cell Sci* 2003; 116: 3051-3060 [PMID: 12829735 DOI: 10.1242/jcs.00653]
- Astudillo H, Lopez T, Castillo S, Gariglio P, Benitez L. p53, Bcl-2, PCNA expression, and apoptotic rates during cervical tumorigenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1010: 771-774 [PMID: 15033825 DOI: 10.1196/annals.1299.138]
- Stroescu C, Dragnea A, Ivanov B, Pechianu C, Herlea V, Sgarbura O, Popescu A, Popescu I. Expression of p53, Bcl-2, VEGF, Ki67 and PCNA and prognostic significance in hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 411-417 [PMID: 19104702]
- Liu WG, Gu WZ, Zhou YB, Tang HF, Li MJ, Ma WX. The prognostic relevance of preoperative transcatheter arterial chemoembolization (TACE) and PCNA/VEGF expression in patients with Wilms' tumour. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 931-938 [PMID: 19021718 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.02043.x]
- 沈云芳, 庄蕙, 沈健伟, 陈士葆. 细胞凋亡与肿瘤. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 267-268
- 华杰松. 幽门螺杆菌, 细胞增殖和细胞凋亡在胃癌发生中的作用. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 647-648
- 童强松, 曾甫清, 朱朝晖, 赵军, 鲁功成, 林晨. 稳定转导反义增殖细胞核抗原基因对膀胱癌细胞体外增殖活性的调控作用. *中华实验外科杂志* 2002; 19: 644-645

编辑 田滢 电编 鲁亚静



siRNA沉默KAP-1表达抑制胰腺癌细胞PANC-1的侵袭能力

江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊

江建新, 詹磊, 黄洋, 何燕浙, 孙诚谊, 贵阳医学院附属医院
肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

江建新, 副主任医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81160311

贵州省科教青年英才培养工程基金资助项目, No. 黔省专合
字[2012]177号

贵州省科技厅2011年度社会攻关计划基金资助项目, No. 黔
科合SY字[2011] 3007

贵州省肝胆胰疾病研究科技创新人才团队基金资助项目, No.
黔科合人才团队[2010]4010

作者贡献分布: 主要实验设计、资料收集分析、统计及文章撰
写由江建新完成; 文章修改和审阅由孙诚谊完成; 样本处理、实
验操作由詹磊、黄洋及何燕浙完成。

通讯作者: 孙诚谊, 教授, 550001, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵
阳医学院附属医院肝胆外科。chengyisun@medmail.com.cn;
电话: 0851-6773083

收稿日期: 2013-02-18 修回日期: 2013-05-28

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

SiRNA-mediated silencing of KAP-1 expression inhibits invasion of human pancreatic cancer PANC-1 cells

Jian-Xin Jiang, Lei Zhan, Yang Huang, Yan-Zhe He, Cheng-Yi Sun

Jian-Xin Jiang, Lei Zhan, Yang Huang, Yan-Zhe He, Cheng-Yi Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160311; the Outstanding Young Training Project of Science and Education of Guizhou Province, No. [2012]177; the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2011] 3007; the Liver and Pancreatic Diseases Technological Innovation Talent Team Foundation of Guizhou Province, No. [2010]4010

Correspondence to: Yi-Cheng Sun, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. chengyisun@medmail.com.cn

Received: 2013-02-18 Revised: 2013-05-28

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To investigate the impact of small interfering RNA (siRNA)-mediated KAP-1 gene silencing on invasion of human pancreatic cancer PANC-1 cells, and to explore the feasibility of human KAP-1 gene as a therapeutic target for pancreatic cancer.

METHODS: Five KAP-1-specific siRNAs were

designed using online software to construct pGC-LV-siRNA-KAP-1 plasmid. Western blot was used to screen the efficient plasmid in 293T cells, and the most efficient one was packed into the recombinant lentivirus Lv-siRNA-KAP-1 in 293T cells. The titer of lentivirus was determined by hole-by-dilution titer assay. The silencing effect of Lv-siRNA-KAP-1 in PANC-1 cells was validated by real-time PCR. After PANC-1 cells were infected with Lv-siRNA-KAP-1, cell invasion was detected by Transwell chamber assay. Vimentin expression in cells was detected by Western blot.

RESULTS: Four KAP-1-specific siRNAs could silence the expression of KAP-1 at the protein level 48 h after transfection. The most efficient pGC-siRNA-3 plasmid was used to construct Lv-VIM-shRNA. The titer of lentivirus was 2×10^9 TU/mL. KAP-1 knockdown significantly inhibited invasion of human pancreatic cancer PANC-1 cells compared to blank control and negative control cells (97.3 ± 25.6 vs 253.3 ± 20.6 , 213.2 ± 19.4 , both $P < 0.05$). The expression of vimentin was down-regulated in PANC-1 cells infected with Lv-siRNA-KAP-1.

CONCLUSION: Lv-siRNA-KAP-1 could effectively inhibit the expression of KAP-1 gene in PANC-1 cells *in vitro*, cell invasion and Vimentin expression. KAP-1 might serve as a new target for gene therapy of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic carcinoma; KAP-1; RNA interference; Invasion

Jiang JX, Zhan L, Huang Y, He YZ, Sun CY. SiRNA-mediated silencing of KAP-1 expression inhibits invasion of human pancreatic cancer PANC-1 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1859-1865 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1859.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1859>

摘要

目的: 观察siRNA沉默KAP-1基因表达对人胰腺癌PANC-1细胞侵袭能力的影响, 探求该基

■背景资料

胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素, 我们前期依据文献以MIA-PaCa2 (TIC^{high})与BxPc-3 (TIC^{low})作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞, 通过蛋白质组学筛选胰腺癌干细胞相关差异蛋白, 发现KAP-1在前者表达较后者高10倍多, 我们的研究也显示KAP-1在胰腺癌组织中高表达, 正常胰腺组织中几乎不表达; 且与胰腺癌的分化相关, 为了进一步研究KAP-1在胰腺癌中的作用, 本研究通过构建Lv-siRNA-KAP-1感染胰腺癌细胞株PANC-1, 检测其对胰腺癌细胞的侵袭能力影响, 探讨其可能的机制。

■同行评议者

李淑德, 教授, 第二军医大学长海医院消化内科

■研究前沿

KAP-1在胰腺癌细胞侵袭转移中的作用未见文献报道,该研究成功构建KAP-1的RNAi重组慢病毒表达系统,作为一种研究KAP-1的工具,感染PANC-1细胞能抑制其侵袭能力;其机制之一是下调与侵袭转移相关的波形蛋白表达,KAP-1有可能成为新的胰腺癌治疗靶点。

因作为治疗靶点的可行性。

方法: 针对KAP-1基因设计5条siRNA,构建真核表达载体,转染293T细胞筛选RNAi有效靶点,包装成重组慢病毒Lv-siRNA-KAP-1,感染胰腺癌细胞PANC-1成功后RT-qPCR检测RNA干扰沉默效果,Transwell小室检测细胞侵袭能力。Western blot检测波形蛋白表达。

结果: 转染48 h后,5条siRNA能显著抑制KAP-1的蛋白表达;其中最有效的1条siRNA包装成重组慢病毒Lv-siRNA-KAP-1,感染PANC-1细胞侵袭能力明显受到抑制;感染后细胞侵袭数目(178.6 ± 30.3)较空白对照组(253.3 ± 20.6)与阴性对照组(97.3 ± 25.6)明显减少,差异显著($P < 0.05$);感染后PANC-1细胞的波形蛋白表达下调。

结论: Lv-siRNA-KAP-1能显著抑制PANC-1细胞KAP-1的表达,抑制PANC-1细胞侵袭能力及波形蛋白表达,KAP-1基因有可能成为胰腺癌基因治疗的新靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; KAP-1; 小干扰RNA; 侵袭

核心提示: KAP-1在胰腺癌细胞中高表达,其表达与胰腺癌细胞的分化相关,KAP-1作为一种转录中介因子,可能通过调控其他蛋白来影响胰腺癌的生物学行为。该研究成功构建KAP-1的RNAi重组慢病毒表达系统,感染PANC-1细胞能抑制其侵袭能力;其机制之一是下调与侵袭转移相关的波形蛋白表达,KAP-1有可能成为新的胰腺癌治疗靶点。

江建新,詹磊,黄洋,何燕浙,孙诚谊. siRNA沉默KAP-1表达抑制胰腺癌细胞PANC-1的侵袭能力. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1859-1865 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1859.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1859>

0 引言

胰腺癌是高度恶性、预后最差的恶性肿瘤之一,其5年生存率不到5%^[1];大多数患者因确诊时伴有局部和/或远处侵袭转移而丧失手术时机^[2];即使临床手术根治性切除的胰腺癌患者术后也大多数因出现复发和远处转移预后极差,其原因为术前就有微转移灶形成及其化疗抵抗^[3];胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素。肿瘤干细胞理论

解释了上述现象。胰腺癌干细胞研究表明^[4]:在原发肿瘤里存在一个亚群细胞,这群细胞具有自我更新、分化潜能以及在异位重新成瘤能力;同时,这群细胞还具有侵袭转移和化疗抵抗特性。最新的研究表明:胰腺癌在形成之前通过上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)形成胰腺癌干细胞,是其早期发生转移、治疗抵抗、复发的根本原因^[5]。我们前期依据文献以MIA-PaCa₂(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞^[6],通过蛋白质组学筛选胰腺癌干细胞相关差异蛋白,发现KAP-1(KAP-1, KRAB-associated protein 1; TRIM28, tripartite motif-containing 28; TIF1 β)在前者表达较后者高10倍多,并通过检索文献提示KAP-1与EMT和干细胞的“干性”相关^[7]。此外,我们也采用免疫组织化学方法显示KAP-1在胰腺癌组织中高表达,正常胰腺组织中几乎不表达;在低分化胰腺癌组织中表达最高,中分化胰腺癌组织中表达较高,高分化胰腺癌组织中低表达;采用Western blot显示KAP-1蛋白在低分化胰腺癌细胞株MIA-PaCa₂和Panc-1中蛋白表达高,来源于肝转移的胰腺癌细胞系CFPAC-1中表达较高,其余细胞系BxPC3、AsPC-1、SW1990、Capan-1和Capan-2中不表达(数据未显示)。KAP-1是一个97 kDa的核磷蛋白。人KAP-1基因位于19号染色体,位置是19q13.4,共16个外显子;小鼠KAP-1基因位于7号染色体,位置是7 A2,共17个外显子。KAP-1具有TIF1家族中常见的保守结构域: N端的RBCC(RING-B box-coiled-coil)结构域、C端保守的PHD型锌指和紧随其后的Bromodomain(BrD)结构域,中部是该家族内保守度最低的区域,一般情况下富含脯氨酸,甘氨酸和丝氨酸^[8]。为了进一步研究KAP-1在胰腺癌中的作用,本研究通过构建Lv-siRNA-KAP-1感染胰腺癌细胞株PANC-1,检测其对胰腺癌细胞的侵袭能力影响,探讨其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株PANC-1, 293T细胞购自American Tissue Culture Collection(ATCC);慢病毒质粒pGC-LV、包装质粒pHelper 1.0和pHelper 2.0购自上海吉凯基因化学技术有限公司;限制性内切酶Age I、EcoR I、T4连接酶购自美国NEB公司;质粒抽提试剂盒、胶回收试剂盒均购自美国Promega公司;总RNA提取试剂盒购自Qiagen公司;Fugene HD转染试剂购

表 1 靶向TRIM28基因siRNA候选序列

名称	靶序列
siRNA-1	CTGAGACCAAACCTGTGCTTA
siRNA-2	GACCACCAGTACCAGTTCTTA
siRNA-3	GAGAATTATTTTCATGCGTGAT
siRNA-4	CCTGGCTCTGTTCTCTGTCCT
siRNA-5	GAGGACTACAACCTTATTGTT
NS-siRNA	TTCTCCGAACGTGTCACGT

自瑞士Roche公司; KAP-1定量PCR引物及qRT-PCR检测试剂盒购自美国GeneCopoeia公司; 兔抗人TIF1 β 单克隆抗体购自美国Cell Signaling公司; 小鼠抗Vimentin V9单克隆抗体购自美国Sigma公司。

1.2 方法

1.2.1 Lv-siRNA-KAP-1的构建与鉴定: 通过Ambion网站进行siRNA的设计, 根据人TRIM28基因(Genbank NM_005762.2)的编码序列设计5条不同的siRNA序列及1条阴性对照siRNA序列(表1), 病毒载体构建框架见表2, 所有siRNA由上海吉凯基因化学有限公司合成提供。通过Age I和EcoR I双酶切, T4连接酶连接上述siRNA序列到GV112载体(上海吉凯基因化学技术有限公司)上; 其产物转化细菌感受态细胞DH5 α , 进行菌落PCR鉴定, 阳性克隆鉴定, 大量提取慢病毒载体质粒pGC-LV-siRNA-KAP-1。以293T细胞为工具细胞进行目的基因KAP-1过表达及siRNA共转染; 转染后36-48 h收集细胞, 提取总蛋白进行Western blot检测KAP-1(抗体工作浓度1:200); 空白对照组: 转染KAP-1过表达质粒的293T细胞组; 阴性对照组: 转染KAP-1过表达质粒和阴性对照病毒载体质粒的293T细胞组; siRNA1-5组: 转染KAP-1过表达质粒和pGC-siRNA1-5的293T细胞组。外源筛靶鉴定最有效的siRNA, 包装成重组慢病毒。采用pGC-LV-KAP-1-RNAi慢病毒表达载体质粒、pHelper 2.0辅助质粒、pHelper 1.0包装质粒(VSVg, 外壳蛋白)在HEK 293FT细胞中进行慢病毒包装, 按照说明书提供的梯度稀释法测定病毒滴度。将PANC-1胰腺癌细胞分别常规培养, 感染复数(MOI)为5:1, 48 h后RT-qPCR方法在PANC-1细胞内验证LV-siRNA-KAP-1的干扰效果; 反应体系为20 μ L, 其中SYBR Green/ROX qPCR Master Mix为10 μ L, 2.5 μ mol/L的上下游引物各0.5 μ L, cDNA为1 μ L, ddH₂O为8 μ L。反应程序为: 预变性95 $^{\circ}$ C, 15 s;

之后每一步变性95 $^{\circ}$ C, 5 s; 退火延伸60 $^{\circ}$ C, 30 s; 共进行45个循环, 实验重复3次, 由随机附带软件LCS480 1.5.039计算Ct值和拷贝数, 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}分析法进行数值分析(管家基因GAPDH为内参)。KAP-1引物: 上游: 5'-AAGTCTCGGGATGGTGAACG-3', 下游: 5'-CAGACACCTGGCGGATTGA-3', 长度262 bp; GAPDH引物: 上游: 5'-TGACTTCAA-CAGCGACACCCA-3', 下游: 5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3', 长度121 bp。(引物序列由软件Beacon designer 7设计, 上海生工生物工程技术服务有限公司合成)。

1.2.2 Transwell小室侵袭实验: 生长状态良好的PANC-1细胞, Lv-siRNA-KAP-1感染PANC-1细胞, 48 h后GFP表达绿色荧光呈高峰。按说明书要求, 从-20 $^{\circ}$ C取出有基质胶的Transwell小室(购自德国BD Biosciences公司)恢复至室温, 将所需小室放入24孔培养板中, 在上下室各加入500 μ L 37 $^{\circ}$ C预温的无血清培养基, 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂培养箱放置2 h, 使基质胶再水化。再吸去剩余培养液。上室种入500 μ L(细胞数 2.5×10^4 个), 下室加入750 μ L含20%FBS的DMEM培养液500 μ L, 置于细胞培养箱中培养, 48 h后取出小室, 位于膜上层的非浸润的细胞用棉签轻轻擦去, 然后将膜经过甲醇固定30 min, 结晶紫染液染色5 min后, 置于显微镜下观察, 分别取5个视野计数。

1.2.3 Western blot检测KAP-1 siRNA对PANC-1细胞波形蛋白(Vimentin)表达的影响: Lv-siRNA-KAP-1感染PANC-1细胞, 48-72 h后收集细胞, 提取总蛋白, 按照上述方法进行Western blot检测波形蛋白(抗体工作浓度1:200)的表达, 实验重复3次, 条带密度采用QuantityOne Program(Bio-Rad)软件进行分析。目的蛋白的相对表达水平 = 目的蛋白的灰度值/ β -actin蛋白的灰度值, 取3次平均值。采用GAPDH为参照。

统计学处理 数据用mean \pm SD表示, 采用SPSS17.0对数据进行统计, 计数资料采用两个或多个样本的t检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 Lv-siRNA-KAP-1的构建与鉴定 构建的慢病毒载体质粒pGC-LV-siRNA-KAP-1阳性克隆测序结果显示重组质粒中插入的RNA干扰目的序列与软件设计中的序列一致, 没有碱基缺失或替换等, pGC-siRNA-3部分测序结果见图(1), 转染293T细胞显示融合绿色荧光蛋白的表达(图2), 表明其构建成功。将目的基因KAP-1过表达

■ 相关报道

Ho等采用蛋白质组学技术筛选KAP-1在乳腺癌中高表达, 且与乳腺癌侵袭转移相关。Takeshi等证实KAP-1在胃癌中高表达, 且和胃癌的腹腔播散及不良预后相关。Bingnan等发现KAP-1与化疗耐药相关, 且KAP-1的Ser824发生磷酸化。

■创新盘点

该研究成功构建KAP-1的RNAi重组慢病毒表达系统,证实了下调KAP-1的表达能抑制PANC-1细胞的侵袭能力;其机制之一是下调与侵袭转移相关的波形蛋白表达。

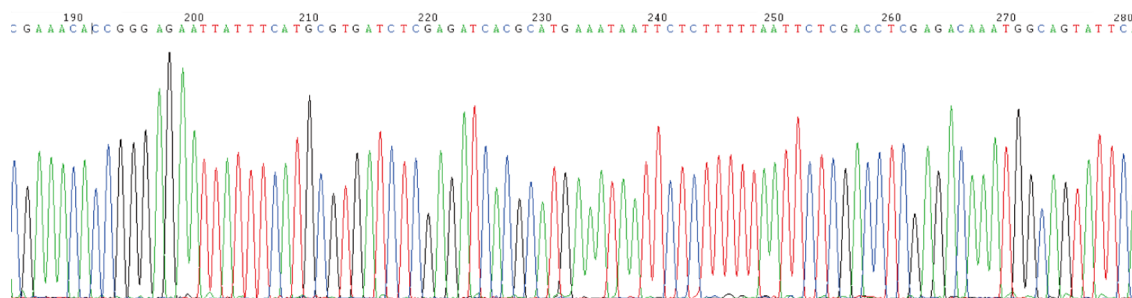


图1 重组慢病毒质粒载体pGC-siRNA-3部分测序图。

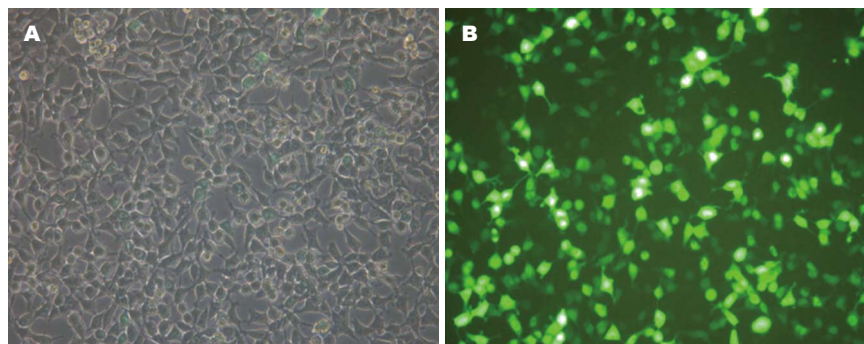


图2 重组慢病毒质粒载体pGC-siRNA-3感染的293T细胞48 h后的荧光图($\times 40$)。A: 明视野图; B: 绿色荧光图。

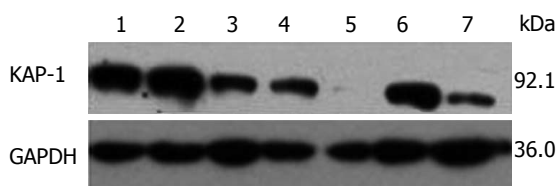


图3 Western blot外源靶鉴定最有效的siRNA。共转染KAP-1过表达质粒和慢病毒载体质粒pGC-siRNA与293T细胞, Western blot检测KAP-1的表达。1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: siRNA-1组; 4: siRNA-2组; 5: siRNA-3组; 6: siRNA-4组; 7: siRNA-5组。

质粒与基因敲除siRNA质粒共转染293T细胞, 通过Western blot外源靶实验, 5个干预组siRNA有4个能使KAP-1基因在蛋白水平表达明显下调($P<0.05$), 具有明显KAP-1基因敲除作用的质粒pGC-siRNA-3进行病毒包装(图3)。筛选出的重组载体质粒与慢病毒包装质粒共转染293T细胞, 包装成慢病毒。根据公式计算慢病毒滴度为 1.5×10^9 TU/mL。成功包装的慢病毒命名为Lv-siRNA-KAP-1。RT-qPCR检测Lv-siRNA-KAP-1抑制胰腺癌细胞PANC-1的KAP-1表达, 结果显示siRNA具有显著的干扰KAP-1表达作用(图4), 表明Lv-siRNA-KAP-1包装成功, 可以作为研究工具使用。

2.2 Transwell小室侵袭实验 Transwell小室侵袭实验检测Lv-siRNA-KAP-1对PANC-1细胞侵袭能力的影响, 结果显示: 空白对照组侵袭细

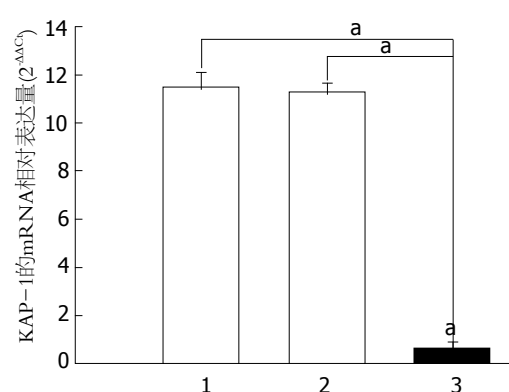


图4 RT-qPCR检测Lv-siRNA-KAP-1感染胰腺癌细胞PANC-1后KAP-1 mRNA的相对表达量。* $P<0.05$ 。1: 空白对照组; 2: 实验对照组; 3: 实验组。

胞数目为 253.3 ± 20.6 个, 阴性对照组为 213.2 ± 19.4 个, 实验组为 97.3 ± 25.6 个, 表明干扰KAP-1表达能抑制PANC-1细胞的侵袭能力($P<0.05$, 图5)。

2.3 RNAi抑制KAP-1表达对PANC-1细胞波形蛋白表达的影响 Western blot结果显示Lv-siRNA-KAP-1抑制KAP-1表达能下调PANC-1细胞波形蛋白表达, 与空白对照组和阴性对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$, 图6)。

3 讨论

KAP-1(又称TIF1 β 、TRIM28等)是一种转录中介因子, 在诸多转录调控复合体中起桥梁作用^[8]。

表 2 靶向TRIM28基因siRNA病毒载体合成序列

名称	病毒载体合成序列
siRNA-1-1	CcggCTGAGACCAAACTGTGCTTACTCGAGTAAGCACAGGTTTGGTCTCAGTTTTTg
siRNA-1-2	aattcaaaaaCTGAGACCAAACTGTGCTTACTCGAGTAAGCACAGGTTTGGTCTCAG
siRNA-2-1	CcggGACCACCAGTACCAGTTCTTACTCGAGTAAGAACTGGTACTGGTGGTCTTTTTg
siRNA-2-2	aattcaaaaaGACCACCAGTACCAGTTCTTACTCGAGTAAGAACTGGTACTGGTGGTC
siRNA-3-1	CcggGAGAATTATTTTCATGCGTGATCTCGAGATCACGCATGAAATAATTCTCTTTTTg
siRNA-3-2	aattcaaaaaGAGAATTATTTTCATGCGTGATCTCGAGATCACGCATGAAATAATTCTC
siRNA-4-1	CcggCCTGGCTCTGTTCTCTGTCTCTCGAGAGGACAGAGAACAGAGCCAGGTTTTTg
siRNA-4-2	aattcaaaaaCCTGGCTCTGTTCTCTGTCTCTCGAGAGGACAGAGAACAGAGCCAGG
siRNA-5-1	CcggGAGGACTACAACCTTATTGTTCTCGAGAACAATAAGGTTGTAGTCCTCTTTTTg
siRNA-5-2	aattcaaaaaGAGGACTACAACCTTATTGTTCTCGAGAACAATAAGGTTGTAGTCCTC

■应用要点

成功构建的KAP-1 RNAi重组慢病毒表达系统可以作为一种研究KAP-1的工具,为后续探讨KAP-1在胰腺癌干细胞中的作用及其作用机制研究提供一种工具。

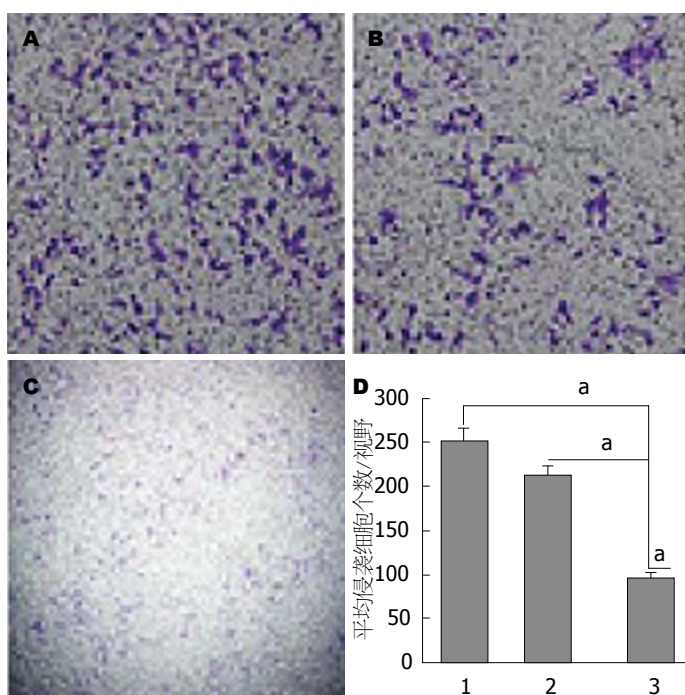


图 5 Transwell侵袭实验检测Lv-siRNA-KAP-1对PANC-1细胞侵袭能力的影响. A-C: 结晶紫染色图; D: 侵袭细胞平均计数图 ($P<0.05$). 1: 空白对照组; 2: 实验对照组; 3: 实验组。

他通过其N端RBCC结构域与含KRAB结构域的锌指蛋白、MDM2、MM1、C/EBP β 等相互作用;通过C端的PHD及BrD结构域与SETDB1、Mi-2 α 等分子相互作用,参与形成具有组蛋白甲基化酶或组蛋白去乙酰化酶活性的复合体;通过中间的HP1BD区域与HP1蛋白相互作用,进而与组蛋白相结合.许多研究表明,KAP-1在肿瘤细胞中高表达且与肿瘤的侵袭转移相关. Ho等^[9]采用蛋白质组学技术筛选KAP-1在乳腺癌中高表达,且与乳腺癌侵袭转移相关. Yokoe等^[10]证实KAP-1在胃癌中高表达,且和胃癌的腹腔播散及不良预后相关.此外,KAP-1参与EMT发生,与肿瘤的侵袭转移相关. Venkov等^[11]以SJL/J小鼠肾近端小管上皮细胞株MCT(mIMCD)为研究对象,采用凝胶迁移或电泳迁移率实验(EMSA)和

DNA亲和层析法及后续的质谱分析,在纤维母细胞特异性蛋白1(FSP1)的近端顺式作用子元件(FTS-1)域绑定的蛋白复合物中鉴定出两个蛋白质,分别为CBF-A和KAP-1. FSP1在人肿瘤细胞中称为S100A4,在EMT发挥重要作用;S100A4能增加肿瘤细胞的运动和侵袭能力,导致转移瘤的发生. 最近有研究表明^[12]:在人畸胎瘤细胞系NTera2D1中,KAP-1能在mRNA水平上激活许多EMT相关基因,如: *ACTA2*、*S100A4*、*SNAIL2*、*TJP1*、*TJP2*、*TWIST1*、*VIM*等. 上述这些研究充分表明KAP-1不仅在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,而且与肿瘤的侵袭转移能力密切相关. 我们的实验结果也显示RNAi抑制KAP-1在胰腺癌细胞PANC-1的表达,能抑制PANC-1细胞的侵袭能力;其机制之一是下调与

■同行评价

本文内容紧密结合临床,研究方法先进,具有重要的临床指导意义和广阔应用前景。

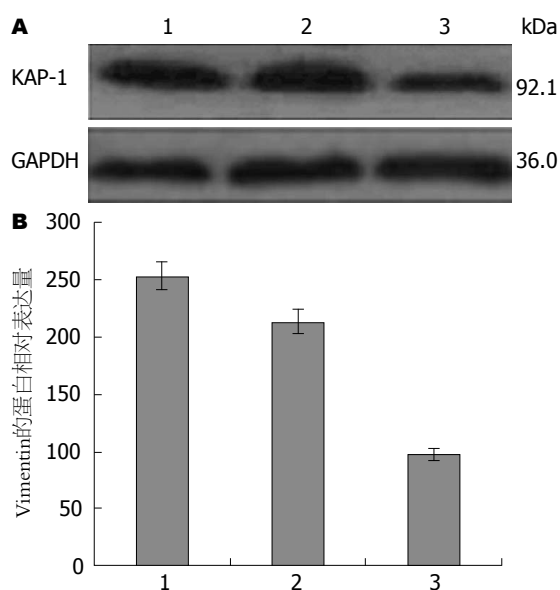


图6 Western blot检测Lv-siRNA-KAP-1对PANC-1细胞Vimentin表达的影响。A: Western blot检测Vimentin的表达水平; B: Vimentin的相对表达量。1: 空白对照组; 2: 实验对照组; 3: 实验组。

侵袭转移相关的波形蛋白表达。

波形蛋白是一种重要的细胞骨架蛋白,属中间丝中的波形纤维蛋白类,他在细胞的机械性和生物学功能,如细胞收缩、迁移、刚性以及增殖等方面有重要作用^[13]。正常分化的上皮细胞不表达波形蛋白,而上皮细胞来源的肿瘤细胞在其演进过程中获得侵袭转移能力时有波形蛋白表达,即上皮细胞间质转化;其主要特征是E-钙黏素表达缺失以及波形蛋白和纤维连接蛋白再表达^[14]。波形蛋白在肿瘤细胞中的表达有助于改变肿瘤细胞的生物学特性,有研究采用siRNA下调波形蛋白的表达证实其能抑制癌细胞生长和运动^[15]及抑制结肠癌和乳腺癌细胞的侵袭转移能力^[16]。逆转肿瘤细胞的间质特性,恢复上皮细胞的特性^[15];波形蛋白的过表达通过C-Src激酶调节促进激素非依赖性前列腺癌细胞侵袭转移^[17];在胰腺癌肝脏转移瘤中发现波形蛋白大量表达^[18]。这些研究表明波形蛋白与肿瘤包括胰腺癌细胞的侵袭转移能力密切相关。有些上调波形蛋白表达因素如血管内皮生长因子受体1的激活可以引起转录因子Snail、Twist和Slug的表达上升,增加波形蛋白和N-钙黏附蛋白等间质标志蛋白的表达^[19]。骨形态发生蛋白4处理胰腺癌细胞Panc-1,显示E-钙黏素表达下调,波形蛋白表达上升^[20]。我们的实验结果证明了KAP-1在胰腺癌细胞PANC-1中能下调与侵袭转移相关的波形蛋白表达,进而影响其侵袭能力。

总之,本研究成功构建KAP-1的RNAi重组慢病毒表达系统,经感染胰腺癌细胞PANC-1后,有效地下调KAP-1的表达,抑制PANC-1细胞的侵袭能力;其机制之一是下调与侵袭转移相关的波形蛋白表达。KAP-1有可能成为新的胰腺癌治疗靶点。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Tuveson DA, Neoptolemos JP. Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches. *Cell* 2012; 148: 21-23 [PMID: 22265397 DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.021]
- 3 Lim KH, Chung E, Khan A, Cao D, Linehan D, Ben-Josef E, Wang-Gillam A. Neoadjuvant therapy of pancreatic cancer: the emerging paradigm? *Oncologist* 2012; 17: 192-200 [PMID: 22250057 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0268]
- 4 Rasheed ZA, Matsui W. Biological and clinical relevance of stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 15-18 [PMID: 22320910 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07015.x]
- 5 Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, Maitra A, Bailey JM, McAllister F, Reichert M, Beatty GL, Rustgi AK, Vonderheide RH, Leach SD, Stanger BZ. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 2012; 148: 349-361 [PMID: 22265420 DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.025]
- 6 Kallifatidis G, Rausch V, Baumann B, Apel A, Beckermann BM, Groth A, Mattern J, Li Z, Kolb A, Moldenhauer G, Altevogt P, Wirth T, Werner J, Schemmer P, Büchler MW, Salnikow AV, Herr I. Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-kappaB-induced antiapoptotic signaling. *Gut* 2009; 58: 949-963 [PMID: 18829980 DOI: 10.1136/gut.2008.149039]
- 7 江建新, 高珊, 潘耀振, 孙诚谊. 蛋白组学分析胰腺癌干细胞相关差异蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 145-152
- 8 Yang D, Jiang Y, He FC. [KAP-1, a scaffold protein in transcription regulation]. *Yi Chuan* 2007; 29: 131-136 [PMID: 17369165]
- 9 Ho J, Kong JW, Choong LY, Loh MC, Toy W, Chong PK, Wong CH, Wong CY, Shah N, Lim YP. Novel breast cancer metastasis-associated proteins. *J Proteome Res* 2009; 8: 583-594 [PMID: 19086899 DOI: 10.1021/pr8007368]
- 10 Yokoe T, Toiyama Y, Okugawa Y, Tanaka K, Ohi M, Inoue Y, Mohri Y, Miki C, Kusunoki M. KAP1 is associated with peritoneal carcinomatosis in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 821-828 [PMID: 19898899 DOI: 10.1245/s10434-009-0795-8]
- 11 Venkov CD, Link AJ, Jennings JL, Plieth D, Inoue T, Nagai K, Xu C, Dimitrova YN, Rauscher FJ, Neilson EG. A proximal activator of transcription in epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007; 117: 482-491 [PMID: 17273560 DOI: 10.1172/JCI29544]
- 12 Iyengar S, Ivanov AV, Jin VX, Rauscher FJ, Farnham PJ. Functional analysis of KAP1 genomic recruitment. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 1833-1847 [PMID: 21343339 DOI: 10.1128/MCB.01331-10]
- 13 Wang N, Stamenovic D. Mechanics of vimentin

- intermediate filaments. *J Muscle Res Cell Motil* 2002; 23: 535-540 [PMID: 12785103]
- 14 Vasko V, Espinosa AV, Scouten W, He H, Auer H, Liyanarachchi S, Larin A, Savchenko V, Francis GL, de la Chapelle A, Saji M, Ringel MD. Gene expression and functional evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in papillary thyroid carcinoma invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 2803-2808 [PMID: 17296934 DOI: 10.1073/pnas.0610733104]
- 15 Paccione RJ, Miyazaki H, Patel V, Waseem A, Gutkind JS, Zehner ZE, Yeudall WA. Keratin down-regulation in vimentin-positive cancer cells is reversible by vimentin RNA interference, which inhibits growth and motility. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2894-2903 [PMID: 18790770 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0450]
- 16 McInroy L, Määttä A. Down-regulation of vimentin expression inhibits carcinoma cell migration and adhesion. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 360: 109-114 [PMID: 17585878 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.06.036]
- 17 Wei J, Xu G, Wu M, Zhang Y, Li Q, Liu P, Zhu T, Song A, Zhao L, Han Z, Chen G, Wang S, Meng L, Zhou J, Lu Y, Wang S, Ma D. Overexpression of vimentin contributes to prostate cancer invasion and metastasis via src regulation. *Anticancer Res* 2008; 28: 327-334 [PMID: 18383865]
- 18 Nakajima S, Doi R, Toyoda E, Tsuji S, Wada M, Koizumi M, Tulachan SS, Ito D, Kami K, Mori T, Kawaguchi Y, Fujimoto K, Hosotani R, Imamura M. N-cadherin expression and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4125-4133 [PMID: 15217949 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-0578-03]
- 19 Yang AD, Camp ER, Fan F, Shen L, Gray MJ, Liu W, Somcio R, Bauer TW, Wu Y, Hicklin DJ, Ellis LM. Vascular endothelial growth factor receptor-1 activation mediates epithelial to mesenchymal transition in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res* 2006; 66: 46-51 [PMID: 16397214 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3086]
- 20 Hamada S, Satoh K, Hirota M, Kimura K, Kanno A, Masamune A, Shimosegawa T. Bone morphogenetic protein 4 induces epithelial-mesenchymal transition through MSX2 induction on pancreatic cancer cell line. *J Cell Physiol* 2007; 213: 768-774 [PMID: 17516553 DOI: 10.1002/jcp.21148]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

内镜黏膜下剥离术在胃肠黏膜病变治疗中的价值

张春霞, 宫爱霞, 孙颖, 刘艳洁, 夏楠, 冷敬, 葛林梅

■背景资料

目前胃肠肿瘤仍是威胁人类健康的及造成死亡的重要原因, 各种特色内镜的出现, 提高了胃肠黏膜病变及早癌的诊断率, 内镜微创治疗成了目前研究的热点。黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)对胃肠黏膜病变及早癌治疗是改善患者预后及提高患者的生活质量的重要方法。

张春霞, 宫爱霞, 孙颖, 刘艳洁, 夏楠, 冷敬, 葛林梅, 大连医科大学附属第一医院消化内镜科 辽宁省大连市 116000
张春霞, 主治医师, 2010年辽宁省大连市大连医科大学硕士, 主要从事消化系统疾病的临床研究及内镜的诊治工作。

作者贡献分布: 此课题由宫爱霞设计; 由宫爱霞、张春霞、孙颖、刘艳洁、夏楠、冷敬及葛林梅等操作完成; 本论文写作由张春霞完成。

通讯作者: 宫爱霞, 主任医师, 116000, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院消化内镜科。zcx1978@163.com

收稿日期: 2013-05-12 修回日期: 2013-06-01

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

Value of endoscopic submucosal dissection in treatment of gastrointestinal mucosal lesions

Chun-Xia Zhang, Ai-Xia Gong, Ying Sun, Yan-Jie Liu, Nan Xia, Jing Leng, Lin-Mei Ge

Chun-Xia Zhang, Ai-Xia Gong, Ying Sun, Yan-Jie Liu, Nan Xia, Jing Leng, Lin-Mei Ge, Department of Endoscopy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ai-Xia Gong, Chief Physician, Department of Endoscopy, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116000, Liaoning Province, China. zcx1978@163.com

Received: 2013-05-12 Revised: 2013-06-01

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection (ESD) in the treatment of gastrointestinal mucosal lesions.

METHODS: Therapeutic effect and complications of ESD were retrospectively evaluated in 42 patients with gastrointestinal mucosal lesions treated in the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University from February 2011 to April 2013.

RESULTS: Two cases were converted to surgical treatment due to negative lifting sign during submucosal injection. ESD was performed in 40 patients. The en-bloc resection rate was 89.1% (41/46), and the histologically curative resection rate was 78.3% (36/46). Bleeding rate was 20.0% (8/40). Among patients who developed bleed-

ing, seven had little bleeding during ESD (19.5%), one developed bleeding within 24 h after ESD (2.4%), and successful endoscopic hemostasis was achieved in all cases. Three patients developed perforation during ESD (7.5%), of whom two were enclosed successfully by clips, and one was cured by surgery. There was no digestive tract stenosis or postoperative pneumonia. Thirty-six of forty patients were followed for two months to two years (average 11.4 mo). One case (2.7%) had local recurrence six months after ESD and was treated by ESD again. No residual or metachronous lesions were found. There were no distant metastases or deaths.

CONCLUSION: ESD is the most important treatment for gastrointestinal mucosal lesions for its high rate of en-bloc resection and histological curative resection rate, lower incidence rate of complications such as hemorrhage, perforation, low-residue and recurrence rate. Once complications such as bleeding or perforation appear, most of them can be cured by endoscopy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic submucosal dissection; Gastrointestinal mucosal lesions; Efficacy; Safety

Zhang CX, Gong AX, Sun Y, Liu YJ, Xia N, Leng J, Ge LM. Value of endoscopic submucosal dissection in treatment of gastrointestinal mucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1866-1870 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1866>

摘要

目的: 评价内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗胃、结直肠黏膜病变有效性及安全性。

方法: 对2011-02/2013-04在大连医科大学附属第一医院行ESD治疗的42例胃肠黏膜病变患者治疗效果及并发症进行回顾性分析。

结果: 2例因黏膜下注射抬举征阴性, 中转手术治疗。40例患者共46处病变完成ESD治疗, 一次性整块切除率为89.1%(41/46), 组

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

组织学治愈性切除率为78.3%(36/46), 出血率20%(8/40), 7例术中少量出血(17.5%), 1例术后24 h内出血(2.5%), 所有出血患者经内镜下治愈. 术中穿孔7.5%(3/40), 其中2例病例经内镜下治愈, 1例穿孔病例经外科手术治疗, 无死亡病例. 无消化系狭窄及肺炎病例. 术后随访2 mo-2年, 1例术后6 mo复发, 复发率2.7%, 再次行ESD治疗, 无残留及淋巴结转移病例, 无死亡病例.

结论: ESD以其高整块切除率及组织学治愈性切除率, 较低的出血、穿孔等并发症发生率, 低残留、复发率, 并且创伤小, 恢复快, 最大限度保留胃肠结构及功能, 同次手术可处理多处病变、同一患者可多次实施ESD手术等优点, 成为消化系黏膜病变的重要治疗方法. 并且一旦出现出血、穿孔等并发症, 大多可经内镜下治愈. ESD是一种安全有效的治疗方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 内镜黏膜下剥离术; 胃肠黏膜病变; 安全性; 有效性

核心提示: 本文就胃肠黏膜病变的内镜黏膜下剥离术治疗疗效, 并发症的发生及防治对策等问题进行总结及患者的随访情况进行讲述, 以便于临床医师对胃肠癌前病变进行密切的监测及有效的干预.

张春霞, 宫爱霞, 孙颖, 刘艳洁, 夏楠, 冷敬, 葛林梅. 内镜黏膜下剥离术在胃肠黏膜病变治疗中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1866-1870 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1866>

0 引言

随着内镜技术及设备的发展, 内镜实现了由诊断工具向治疗工具的转变. 内镜治疗技术, 尤其是内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)逐渐成为胃肠道黏膜癌前病变及黏膜内癌的首选治疗手段. 回顾分析我院2年来采用ESD治疗的胃肠道黏膜病变的临床资料, 分析ESD治疗的疗效及安全性, 评价其在胃肠疾病中的治疗价值.

1 材料和方法

1.1 材料 对2011-02/2013-04于我院检查发现符合ESD治疗的黏膜病变42例患者进行回顾性分析. 其中2例黏膜下注射抬举征阴性, 终止ESD操作, 余40例完成ESD治疗. 男患者20例, 女患者20

例, 年龄53-84岁, 平均年龄66.85岁 \pm 9.53岁. 病灶位于胃19例共21处病变, 结直肠21例共25处病变. 病变直径0.6-5.5 cm, 平均2.15 cm \pm 1.08 cm. 合并高血压、糖尿病、心脑血管等基础疾病20例, 术前长期口服阿司匹林者4例.

1.2 方法

1.2.1 ESD治疗: 患者入院后行常规检查. 术前签署知情同意书. 胃ESD患者在气管插管下行全身静脉麻醉, 肠镜ESD患者行基础静脉麻醉. 选用美兰或靛胭脂确定病变边界. 采用常规标记、黏膜下注射、预切开病变外侧缘黏膜、黏膜剥离、创面处理等ESD治疗方法及术后处理方法. 观察病变切除情况及并发症发生及处理情况. 术后第1年每3 mo复查1次内镜, 术后第2年每6 mo复查1次内镜, 以后每年复查1次.

1.2.2 ESD术观察指标及评价标准: (1)内镜下一次性整块切除率: 内镜下将病变一次性切除获得整块标本的例数与总例数之比; (2)组织病理学观察指标^[1]: 组织学完全治愈性切除: 整块切除的标本各切缘及基底部均无肿瘤组织侵犯, 无淋巴管及血管浸润; 非治愈性切除: 不满足上述条件者; 当标本烧焦或损伤, 分块切除无法恢复病变原貌进行组织学评估的都归类为此类.

1.2.3 并发症观察指标: 出血: 术中出血及术后延迟出血; 穿孔: 术中穿孔和延迟性穿孔; 其他: 消化系狭窄、肺炎、空气栓塞及深静脉血栓等^[2,3].

1.2.4 随访观察指标: (1)术后残留: 手术后6 mo以内在原切除部位及其周围1 cm经病理证实有肿瘤生长; (2)复发: 手术后超过6 mo在原切除部位及周围1 cm经病理证实的肿瘤生长. (3)异时病变: 切除肿瘤部位的以外的其他位置的病变.

统计学处理 采用SPSS16.0软件, 连续变量用mean \pm SD表示, 计数资料采用 χ^2 及确切概率法. $P<0.05$ 时认为具有统计学意义.

2 结果

2.1 ESD切除率及术后病理 ESD治疗46处病变, 整块切除41处, 一次性整块切除率为89.1%(41/46), 其中胃为95.2%(20/21), 结直肠为84%(21/25). 总组织学完全治愈性切除率为78.3%(36/46), 其中胃80.9%(17/21), 结直肠76%(19/25).

42例患者术前及术后疾病、病理情况详见表1, 术前7例患者未行病理学检查. 病理结果侧切缘阳性4例, 基底阳性1例.

2.2 并发症发生率 出血率: 术中出血发生率为

■ 研发前沿

在胃肠肿瘤的癌前阶段及早癌阶段行ESD治疗, 界定适应症, 降低并发症发生率及残留复发率, 对患者进行长期随访, 对疗效及安全性进行全面评价, 使患者最大范围内受益, 是目前研究的重点及热点.

■相关报道

周平红、钟芸诗等学者对ESD适应症、疗效、并发症的发生及预防等方面进行报道, 总结了一系列的治疗经验及体会, 取得了很好的治疗疗效。

表 1 42例患者术前、术后疾病及病理 (n)

项目	具体情况(n)	病理	具体情况(n)
疾病名称(术前)			
胃扁平息肉	18	低级别上皮内瘤变	14
胃早癌(黏膜内癌)	2	高级别上皮内瘤变	10
胃早癌(侵及黏膜下)	0	早癌	3
结直肠侧向发育型肿瘤	20	腺瘤	6
结直肠早癌(黏膜内癌)	2	增生性息肉	2
结直肠早癌(侵及黏膜下)	0	炎性息肉	0
疾病名称(术后)			
胃扁平息肉	14	低级别上皮内瘤变	12
胃早癌(黏膜内癌)	5	高级别上皮内瘤变	14
胃早癌(侵及黏膜下)	1	早癌	10
结直肠侧向发育型肿瘤	18	腺瘤	4
结直肠早癌(黏膜内癌)	3	增生性息肉	1
结直肠早癌(侵及黏膜下)	1	炎性息肉	1

2例浸润黏膜下患者中转外科手术治疗。

表 2 36例患者随访结果 (n)

随访结果	随访时间(术后, mo)					
	1	3	6	12	18	24
随访人数	24	21	18	16	4	2
残留	0	0				
复发			1	0	0	0
异时病变	0	0	0	0	0	0

17.5%(7/40), 其中胃为10.5%(2/19), 结直肠为23.8%(5/21), 均经镜下成功止血。1例胃术后出血发生在术后24 h内, 术后延迟出血发生率为2.5%, 经保守治疗治愈。

穿孔率: 术中穿孔3例, 穿孔发生率7.5%, 其中胃穿孔发生率5.3%(1/19), 结直肠穿孔发生率9.5%(2/21)。其中2例内镜下金属夹夹闭后治愈, 1例因创面较大夹闭失败, 中转外科手术治疗。

目前尚无消化系狭窄、肺炎、空气栓塞及深静脉血栓等病例。

2.3 ESD术后随访 40例完成ESD治疗患者, 4例失访, 1例复发。尚无转移及死亡病例。随访详见表2。ESD术后4例侧切缘阳性及1例基底阳性病例随访(表3)。

3 讨论

腺瘤、上皮内瘤变是公认的癌前病变; 有报道显示直径>2 cm的腺瘤有33%-55%发生癌变; 15%-30%低级别上皮内瘤变发展为高级

别上皮内瘤变或进展为癌, 高级别上皮内瘤变60%-85%的患者4-48 mo进展为癌; 即使直径0.5 cm增生性息肉亦有癌变的报道, 并且术前病理与术后有一定差异, 故对消化系黏膜病变采取积极的内镜下治疗是改善患者预后的关键^[4-6]。淋巴结转移被认为是公认的影响胃癌患者预后的重要因素, Shimada报道黏膜内癌的淋巴结转移率为2.5%, 侵及黏膜下的淋巴结转移率为20.2%, 这些结果与Gotoda报道的黏膜内癌的淋巴结转移率2.2%, 侵及黏膜下的转移率为17.9%相近^[7]。基于胃早癌的极低淋巴结转移风险, 内镜治疗以创伤小、并发症少成为黏膜病变及黏膜内癌的首选治疗方法。内镜下切除不伴淋巴结转移的早癌得到新版NCCN指南的推荐。

我们完成ESD治疗的40例患者, 平均住院时间8.63 d±3.38 d。胃、结直肠整块切除率分别为95.2%、84.0%, 与国内外报道的胃、结直肠ESD整块切除率81%-97%及61.0%-98.2%相符^[8-10]。本组胃的组织学治愈性切除率为80.9%, 与Cho等^[8]荟萃分析的东西方关于ESD报道的组织学治愈性切除率73.6%-94.7%相符。结直肠的组织学治愈性切除率76%, 与Tanaka等^[10]报道的结直肠组织学治愈性切除率58.0%-95.6%相符。本组随访2 mo-2年, 复发率为2.7%。内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)对>2 cm的病变组织学治愈性切除率仅30%-50%, 局部复发率为10%^[11], 本研究病变大小2.15 cm±1.08 cm, 对于>2 cm病变ESD明显高于EMR治愈性切除率。外

表 3 侧切缘或基底阳性患者随访情况

随访病理结果	随访时间(术后, mo)					
	1	3	6	12	18	24
病例1	炎症	未查	炎症	未取病理	炎症	炎症
病例2	未查	炎症	未取病理	炎症		
病例3	未查	LGIN	LGIN			
病例4	炎症	炎症	LGIN	LGIN		
病例5	肉芽肿	未取病理	炎症	炎症	炎症	

LGIN: 低级别上皮内瘤变。

科对于黏膜内癌5年生存率可达99%, 但其并发症发生率和死亡率分别为43.0%、6.5%, 且术后顽固性胃肠功能紊乱、腹腔粘连、早饱等严重影响了患者的生活质量^[12,13]。有文献显示由于肿瘤的微转移, 胃早癌患者即使行根治术后复发率仍为1.7%-3.4%^[14], ESD治疗早期胃癌5年生存率为96.2%-100.0%, 复发率为0%-17.5%^[8], 故ESD是一种安全、有效的治疗方法, 创伤小, 恢复快, 最大限度保留胃肠结构及功能。ESD最大的优势在于可一次手术处理多部位病变, 又可对同一患者多次实施ESD手术, 对多发性癌及异时癌有着外科手术无法比拟的优势。本研究中有6例患者一次进行多部位ESD手术, 1例复发病例再次行ESD治疗。

出血是其主要并发症, 本组出血发生率20%(8/20), 与文献报道的7%-38%相符^[2]。本组大多数出血发生在术中, 其中胃组12.5%, 结直肠组24%, 但因目前对出血的标准尚不统一, 我们的患者均为少量出血、均经内镜成功治疗, 没有出现血红蛋白的下降及需输血治疗病例。报道显示延迟性出血76%发生在术后24 h内^[3]。胃ESD迟发性出血发生率0.6%-15.6%、结直肠术后出血率为0.5%-9.5%^[8,10]。本组1例胃延迟出血发生在术后24 h内, 延迟出血发生率为2.5%, 亦于内镜下金属夹夹闭创面成功止血。报道显示ESD出血的相关危险因素包括病变大小、部位、手术时间、病理类型、操作者、年龄、口服抗凝药及抗血小板药等^[3]。术中出血多发于胃中上1/3及直肠, 考虑中上1/3胃血管较粗、较多及低位直肠有直肠下动脉及肛周动脉双重血供相关。术后出血多发于中下1/3胃。本组1例术后出血发生于胃窦, 病变4.0 cm, 手术时间70 min, 考虑病变较大、创面大、手术时间长、胃窦蠕动强、胆汁反流使创面动脉暴露有关。为减少出血的发生, 预防止血比止血更重要, 及时电凝

暴露的可见血管可减少术中出血, 热活检钳对术后创面可见血管进行电凝及处理人工溃疡创面表面及四周可减少迟发性出血的发生。对于胃ESD患者术后应用质子泵抑制剂及黏膜保护剂可促进人工溃疡创面的愈合。对于有呕血、黑便患者可较早期复查胃镜对创面进行处理减少延迟出血的发生。目前对应用抗凝药抗血小板药是否增加ESD手术出血风险观点不一, 但有文献报道此类药物可增加出血的风险^[15]。本组服用阿司匹林者均无明显出血, 与Tsuji等的报道不一致^[15], 考虑与我们对长期口服阿司匹林患者停药1 wk有关。

穿孔为ESD另一严重并发症。本研究胃、结直肠ESD穿孔率分别为5.3%、9.5%, 与文献报道的胃、结直肠ESD穿孔发生率1.2%-9.7%及3.1%-9.1%相符^[8-10]。穿孔的发生与病灶的特点及部位及操作者的熟练程度等密切相关。结直肠肠腔较小, 黏膜皱襞较多、肠壁较薄且扭曲, 操作难度大。大部分穿孔术中可发现, 通过金属夹夹闭大多可成功闭合。本研究有3例术中穿孔均及时发现, 2例于内镜下行金属夹夹闭创面治愈, 1例创面较大夹闭不成功中转外科手术, 目前尚无相关死亡病例。为预防穿孔做到: (1)黏膜下注射必须充分; (2)黏膜下剥离视野保持清晰, 对剥离中遇到的暴露血管进行电凝预防出血, 对于出血病例, 不可盲目止血; (3)使用透明帽, 清楚地直视剥离的黏膜下层; (4)病变位置在弯曲处或盲肠, 肠镜自由度受到限制, 或病变浸润较深, 黏膜下注射抬举征阴性, 不能强行ESD治疗。

随访2 mo-2年, 4例失访, 复发率为2.7%(1/36), 无残留病例, 无转移及相关死亡病例。研究显示影响复发及残留的因素有病变大小、部位、病理类型、完整切除、操作者等。此复发病例位于胃窦, 直径4.0 cm。切除病灶越大, 切缘阳性率越低, 但出血、穿孔风险增大。若为了减小手术

■同行评价

本文回顾性分析42例胃肠黏膜病变患者进行ESD治疗的效果及并发症, 认为ESD是一种安全有效的治疗消化系统黏膜及黏膜下病变的方法, 有一定的临床参考作用。

并发症及降低难度,使标记范围相对缩短,则增加残留及复发率.对于早癌术前不能准确评估范围及深度,则导致残留及复发率高.故术前应用内镜窄带成像技术(narrow band imaging endoscopy)、美兰、靛胭脂准确判断病变范围.目前于病变外0.5 cm行标记,对于边界欠清病例可适当增大.

4 结论

ESD以其高整块切除率及组织学治愈性切除率,较低的出血、穿孔等并发症发生率,低残留、复发率,并且创伤小,恢复快,最大限度保留胃肠结构及功能,同次手术可处理多处病变、同一患者可多次实施ESD手术等优点,成为消化系统黏膜病变的重要治疗方法.并且一旦出现出血、穿孔等并发症,大多可经内镜下治愈.ESD是一种安全有效的治疗方法.并且Tokio等^[16]报道ESD在老年患者中可行且安全.

总之,ESD是一操作难度大,风险高的技术.需要操作者要有丰富的经验、严格掌握适应症,术中采取积极的方法减少并发症的发生及对出现的并发症进行治疗.加强对术后患者的规律随访.ESD是一较有前景的技术,术者应勇于实践,不断发展和完善.

5 参考文献

- Yoshida S, Kozu T, Gotoda T, Saito D. Detection and treatment of early cancer in high-risk populations. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 745-765 [PMID: 16997158]
- Jeon SW, Jung MK, Cho CM, Tak WY, Kweon YO, Kim SK, Choi YH. Predictors of immediate bleeding during endoscopic submucosal dissection in gastric lesions. *Surg Endosc* 2009; 23: 1974-1979 [PMID: 18553202 DOI: 10.1007/s00464-008-9988-7]
- Oda I, Suzuki H, Nonaka S, Yoshinaga S. Complications of gastric endoscopic submucosal dissection. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 1: 71-78 [PMID: 23368986 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01376.x]
- Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640 [PMID: 18384215 DOI: 10.1043/1543-2165(2008)132633]
- Park SY, Jeon SW, Jung MK, Cho CM, Tak WY, Kweon YO, Kim SK, Choi YH. Long-term follow-up study of gastric intraepithelial neoplasias: progression from low-grade dysplasia to invasive carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 966-970 [PMID: 18787462 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283013d58]
- Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
- Wang J, Yu JC, Kang WM, Ma ZQ. Treatment strategy for early gastric cancer. *Surg Oncol* 2012; 21: 119-123 [PMID: 21256735 DOI: 10.1016/j.suronc.2010.12.004]
- Cho KB, Jeon WJ, Kim JJ. Worldwide experiences of endoscopic submucosal dissection: not just Eastern acrobatics. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2611-2617 [PMID: 21677828 DOI: 10.3748/wjg.v17.i21.2611]
- Baptista V, Singh A, Wassef W. Early gastric cancer: an update on endoscopic management. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 629-635 [PMID: 22954691 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328358e5b5]
- Tanaka S, Terasaki M, Kanao H, Oka S, Chayama K. Current status and future perspectives of endoscopic submucosal dissection for colorectal tumors. *Dig Endosc* 2012; 24 Suppl 1: 73-79 [PMID: 22533757 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01252.x]
- Kakushima N, Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for gastrointestinal neoplasms. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2962-2967 [PMID: 18494043]
- Onozato Y, Ishihara H, Iizuka H, Sohara N, Kakizaki S, Okamura S, Mori M. Endoscopic submucosal dissection for early gastric cancers and large flat adenomas. *Endoscopy* 2006; 38: 980-986 [PMID: 17058161]
- 姚礼庆, 周平红. 内镜粘膜下剥离术, 上海: 复旦大学出版社, 2009: 120
- Cai J, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Micrometastasis in lymph nodes and microinvasion of the muscularis propria in primary lesions of submucosal gastric cancer. *Surgery* 2000; 127: 32-39 [PMID: 10660756]
- Tsuji Y, Ohata K, Ito T, Chiba H, Ohya T, Gunji T, Matsuhashi N. Risk factors for bleeding after endoscopic submucosal dissection for gastric lesions. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2913-2917 [PMID: 20556838]
- Tokioka S, Umegaki E, Murano M, Takeuchi N, Takeuchi T, Kawakami K, Yoda Y, Kojima Y, Higuchi K. Utility and problems of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer in elderly patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 3: 63-69 [PMID: 22486874 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07075.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



不同人工肝方法治疗乙型肝炎肝衰竭的疗效对比分析

刘凤华, 贺玉凯, 李庆方, 王思奎

刘凤华, 贺玉凯, 李庆方, 王思奎, 聊城市人民医院感染科 山东省聊城市 252000

刘凤华, 主治医师, 主要从事肝衰竭的临床治疗和人工肝方面的研究。

作者贡献分布: 此课题设计由王思奎与刘凤华完成; 李庆方指导; 刘凤华与贺玉凯负责临床资料收集、数据管理及统计分析; 论文写作由刘凤华完成; 论文审核由王思奎完成。

通讯作者: 王思奎, 教授, 主任医师, 252000, 山东省聊城市东昌西路67号, 聊城市人民医院感染科. wangsk1966@sina.com
电话: 0635-8272630

收稿日期: 2013-04-29 修回日期: 2013-05-21

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Comparative study of efficacy of different types of artificial liver treatments in management of hepatitis B-associated liver failure

Feng-Hua Liu, Yu-Kai He, Qing-Fang Li, Si-Kui Wang

Feng-Hua Liu, Yu-Kai He, Qing-Fang Li, Si-Kui Wang, Department of Infectious Diseases, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, Shandong Province, China

Correspondence to: Si-Kui Wang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Liaocheng People's Hospital, 67 Dongchang West Road, Liaocheng 252000, Shandong Province, China. wangsk1966@sina.com

Received: 2013-04-29 Revised: 2013-05-21

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical efficacy of plasma exchange (PE), plasma bilirubin adsorption (PBA), and PE combined with PBA in the treatment of hepatitis B-associated liver failure.

METHODS: The clinical data for 150 patients with hepatitis B-associated liver failure were retrospectively analyzed. These patients were randomly divided into a PE group, a PBA group, and a PE + PBA group. The volume of plasma consumed once, the effective rate, liver function, alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBIL), albumin (ALB), prothrombin time (PT), prothrombin time activity (PTA), creatinine (Cr) and plasma ammonia were recorded both before and after treatment and compared among the three groups. The incidence of adverse reactions

was also observed.

RESULTS: The total effective rate was higher in the combination group than in the PE group and PBA group (65.45% vs 62.5%, 59.58%), but the difference was not statistically significant (both $P > 0.05$). TBIL was significantly decreased 4 hours after treatment compared to pre-treatment values in the PE, PBA and combination groups ($410.3 \mu\text{mol/L} \pm 208.6 \mu\text{mol/L}$ vs $292.5 \mu\text{mol/L} \pm 175.4 \mu\text{mol/L}$, $432.7 \mu\text{mol/L} \pm 242.5 \mu\text{mol/L}$ vs $298.8 \mu\text{mol/L} \pm 201.7 \mu\text{mol/L}$, $468.2 \mu\text{mol/L} \pm 241.6 \mu\text{mol/L}$ vs $288.5 \mu\text{mol/L} \pm 184.5 \mu\text{mol/L}$, all $P < 0.05$), but the decline showed no significant statistical difference among the three groups. After treatment, PT was significantly shortened and PTA was increased in the combination group and PE group (both $P < 0.05$), but the changes showed no significant difference between the two groups (both $P > 0.05$). In the PBA group, PT was increased and PTA was decreased after treatment, but the differences were not significant ($P > 0.05$). Blood ammonia and Cr were significantly decreased in the three groups of patients after treatment (all $P < 0.05$), although there was no significant statistical difference among the three groups. No serious adverse reactions occurred. The volume of plasma consumed once was significantly less in the combination group than in the PE group ($1107.1 \text{ mL} \pm 212.3 \text{ mL}$ vs $2911.5 \text{ mL} \pm 352.3 \text{ mL}$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: PE combined with PBA can effectively reduce the amount of plasma consumed and the incidence of adverse reactions, improve survival and therefore represent a safe and effective treatment for hepatitis B-associated liver failure.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver failure; Artificial liver; Plasma exchange; Plasma bilirubin adsorption; Combined treatment

Liu FH, He YK, Li QF, Wang SK. Comparative study of efficacy of different types of artificial liver treatments in management of hepatitis B-associated liver failure.

■背景资料

肝衰竭发病凶险、进展迅速,若不进行必要的干预,生存率很低。在我国,引起肝衰竭的病因主要是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV),约占80%-85%。血浆置换(plasma exchange, PE)与血浆胆红素吸附(plasma specific bilirubin adsorption, PBA)均为有效的治疗手段,但各有其局限性,组合应用人工肝技术成为必然选择。

■同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研究前沿

有研究发现血清总胆红素(total bilirubin)、血氨、肌酐(creatinine)对于HBV相关肝衰竭患者死亡是独立危险因素,PE、PBA有效改善患者的肝功能相关指标。

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(19): 1871-1876
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1871.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1871>

摘要

目的: 观察血浆置换(plasma exchange, PE)、血浆胆红素吸附(plasma specific bilirubin adsorption, PBA)与PE+PBA(联合组)治疗乙型肝炎肝衰竭的临床疗效,探讨乙型肝炎肝衰竭的最佳人工肝治疗方法。

方法: 回顾性分析乙型肝炎肝衰竭患者150例,分为PE组、PBA组、联合组,观察3组患者治疗前后丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶原时间活动度(prothrombin time activity, PTA)、肌酐(creatinine, Cr)和血氨的水平,并观察不良反应的发生率。

结果: (1)联合组总有效率65.45%,高于PE组和PBA组的62.5%和59.58%,但差异无统计学意义($P>0.05$); (2)PE组、PBA组、联合组患者治疗前及治疗后4 h TBIL分别为: $410.3 \mu\text{mol/L} \pm 208.6 \mu\text{mol/L}$ vs $292.5 \mu\text{mol/L} \pm 175.4 \mu\text{mol/L}$, $432.7 \mu\text{mol/L} \pm 242.5 \mu\text{mol/L}$ vs $298.8 \mu\text{mol/L} \pm 201.7 \mu\text{mol/L}$, $468.2 \mu\text{mol/L} \pm 241.6 \mu\text{mol/L}$ vs $288.5 \mu\text{mol/L} \pm 184.5 \mu\text{mol/L}$, 治疗后3组TBIL均明显下降($P<0.05$),下降幅度3组间差异无意义; (3)联合组和PE组治疗后PT缩短,PTA升高($P<0.05$),两组间差异无意义($P>0.05$); (4)3组患者治疗后血氨均显著降低($P<0.05$),但3组间无显著统计学差异($P>0.05$); (5)3组患者治疗后Cr均下降($P<0.05$),但3组间差异无统计学意义($P>0.05$); (6)未发生严重不良反应; (7)单次血浆用量,联合组 $1107.1 \text{ mL} \pm 212.3 \text{ mL}$,明显少于PE组的 $2911.5 \text{ mL} \pm 352.3 \text{ mL}$ ($P<0.05$)。

结论: PE+PBA应用血浆量少,治疗乙型肝炎肝衰竭安全、有效。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝衰竭; 人工肝; 血浆置换; 血浆胆红素吸附; 联合治疗

核心提示: 血浆置换(plasma exchange)+血浆胆红素吸附(plasma specific bilirubin adsorption)治疗方法安全、有效,减少了血浆用量,在一定程度上缓解了血浆短缺的困难,可为更多乙型肝炎肝衰竭患者及时提供人工肝支持治疗。

刘凤华, 贺玉凯, 李庆方, 王思奎. 不同人工肝方法治疗乙型肝炎肝衰竭的疗效对比分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1871-1876 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1871.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1871>

0 引言

肝衰竭是多种因素导致的肝脏合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿,出现以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群^[1]. 葛宗成等^[2]报道肝衰竭的病死率为73.9%,凝血功能越差,病死率越高. 目前我国,引起肝衰竭的主要病因仍然是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV),约占80%-85%,慢加急性衰竭是最常见的类型之一^[3,4]. HBV相关性肝衰竭发病机制复杂且预后极差. 人工肝对肝衰竭的治疗作用已得到了临床的认可,其中血浆置换(plasma exchange, PE)应用最为普遍,但受到血浆来源的制约,血液透析、滤过、吸附等治疗肝衰竭效果有限,组合应用人工肝技术与方法成为必然的选择. 我院开展了PE、血浆胆红素吸附(plasma specific bilirubin adsorption, PBA)、PE+PBA 3种人工肝方法治疗乙型肝炎肝衰竭,本文回顾性总结150例采用人工肝治疗的乙型肝炎肝衰竭患者,就其临床疗效、可行性和安全性进行评估,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2006-12/2012-06聊城市人民医院肝病科住院患者150例,男130例,女20例,年龄20-78岁,平均年龄 $40.6 \text{岁} \pm 8.8 \text{岁}$. 其中急性肝衰竭10例,亚急性肝衰竭16例,慢加急(亚急性)肝衰竭82例,慢性肝衰竭42例晚期35例. 将患者分为PE组48例, PBA组47例, PE+PBA组(联合组)55例. 所有病例均为HBV感染者(为保证治疗前提条件统一,排除合并基础疾病患者,排除合并酒精性、药物性、病毒性等其他原因所致肝损害患者). 3组患者治疗前丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT),凝血酶原时间活动度(prothrombin time activity, PTA),肌酐(creatinine, Cr)和血氨等水平比较无统计学差异. 所有病例诊断符合2006年版《肝衰竭诊疗指南》^[1]诊断标准. 3组均使用北京伟力产WLXGX-8888型血液净化人工肝治疗系统. 对患者行股静脉插管建立体外循环通路. 本实验采用意大利产

表 1 治疗总有效率和病死率 $n(\%)$

分组	PE组($n=48$)	PBA组($n=47$)	联合组($n=55$)	χ^2	P 值
总有效率	30/48(62.50)	28/47(59.58)	36/55(65.45)	155.562	0.055
病死率	6/48(12.50)	8/47(17.02)	6/55(10.9)	145.479	0.061

PE: 血浆置换; PBA: 血浆胆红素吸附.

bellco膜型血浆分离器、廊坊爱尔阴离子树脂血浆吸附柱.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 3组均经股静脉置管, 术中应用低分子肝素抗凝, 使APTT在正常上限的1.5-2.5倍. 术中应用心电监护生命体征. (1)PE: 置换液采用新鲜冰冻血浆或新鲜血浆, 2500-3400 mL/次, 治疗时间: 2-4 h/次. 48例患者共行PE治疗110次, 平均2.29次/例; (2)胆红素吸附: 目标血浆灌流量(4-6 L), 治疗时间2-4 h. 47例患者共行PBA治疗101次, 平均2.15次/例; (3)联合治疗: 先行PE新鲜冰冻血浆或新鲜血浆1000-1500 mL, 再行胆红素吸附, 治疗时间2-4 h, 达到目标血浆灌流量(4-6 L)后撤掉胆红素吸附器. 55例患者, 共行联合治疗98次, 平均1.78次/例.

1.2.2 观察指标: (1)临床治疗效果和预后, 疗效判定: 治疗后3 mo判断近期疗效: 治愈: 症状消失, 黄疸消退, 并发症治愈, 肝功能、凝血功能指标正常; 好转: 症状缓解, 肝功能、凝血功能指标明显好转, 胆红素下降50%以上, PTA>40%; 无效: 肝功能继续恶化, 并发症加重或患者死亡. 治疗期间自动出院病例根据患者出院时病情疗效判断. 总有效率(%) = 治愈病例数+好转病例/总病例数 $\times 100\%$; (2)采集治疗开始前4 h内和治疗结束后4 h内血液标本, 采用日立7020全自动生化分析仪检测肝功和肌酐. 日本东亚CA50型自动血凝仪检测PT、PTA. 日本YM3PA4130血氨测定仪测定血氨水平; (3)不良反应; (4)血浆用量和治疗时间.

统计学处理 应用SPSS13.0数据处理软件, 计数资料组间比较用Pearson χ^2 检验, 计量资料组内比较用配对 t 检验, 两组间比较采用两独立样本 t 检验, 多组组间比较采用单因素方差分析. $P<0.05$ 为差异有显著统计学意义.

2 结果

2.1 治疗效果和预后 3种人工肝方法治疗后大部分患者症状均有不同程度的改善, 表现为: 食欲

增加、乏力改善、腹胀减轻、尿量增多, 浮肿减退等. 但肝性脑病较重患者治疗后精神、意识无明显改善. 总有效率: 联合组>PE组>PBA组, 病死率: 联合组<PE组<PBA组($P>0.05$, 表1).

2.2 辅助检查指标 (1)肝功能变化情况: 3组患者治疗结束后ALT、TBIL显著降低($P<0.05$), 3组间差异无意义. 与治疗前相比联合组及PE组治疗后ALB升高, 2组间差异无意义; 而PBA组ALB降低($P<0.05$), 联合组和PBA组存在统计学差异($P<0.01$)(表1). 治疗后联合组及PE组PT缩短, PTA升高, 2组间差异无意义; 而PBA组PT延长、PTA降低($P>0.05$), 联合组和PBA组存在统计学差异($P<0.001$). 3组患者治疗后血氨水平明显降低($P<0.05$), 3组间无显著统计学差异($P>0.05$); (2)Cr的变化: 治疗后3组患者Cr均有不同程度降低($P<0.05$), 3组间无显著性统计学差异($P>0.05$)(表2).

2.3 不良反应 联合组在皮疹、寒颤、抽搐、感染等方面明显低于PE组和PBA组($P<0.05$), 且皮疹多发生于PE时. 静脉穿刺处出血、渗血3组间差异无统计学意义($P>0.05$, 表3).

2.4 血浆用量和治疗时间 联合组单次治疗血浆用量 $1107.1 \text{ mL} \pm 212.3 \text{ mL}$, 明显少于PE组的 $2911.5 \text{ mL} \pm 352.3 \text{ mL}$, 有显著统计学差异($P<0.01$). PE组、PBA组和联合组治疗时间分别为 $2.91 \text{ h} \pm 0.43 \text{ h}$ 、 $3.02 \text{ h} \pm 0.55 \text{ h}$ 和 $3.25 \text{ h} \pm 0.42 \text{ h}$, 3组间差异无统计学意义($F=18.147$, $P>0.05$).

3 讨论

HBV相关性肝衰竭发病机制复杂, 病死率高, 预后不良. 文献报道患者年龄、肝硬化基础、TBIL、ALB、凝血酶原活动度、乙型肝炎e抗原、MELD分值及并发症肝性脑病及肝肾综合征等与肝衰竭的预后有关^[5-9]. 高龄、INR值、并发肝性脑病及肺部真菌感染是影响乙型肝炎肝衰竭短期预后的独立危险因素^[10].

PE与PBA均为有效的治疗手段^[11-13]. 国内学者已证实采用PE治疗肝衰竭取得了满意疗效^[14,15],

■相关报道

有学者报道序贯应用PE联合PBA治疗肝衰竭能显著改善患者肝功能, 阻止病情恶化, 明显提高临床治愈好转率, 疗效及并发症与应用单纯PE相当.

■创新盘点

本文对150例HBV相关肝衰竭患者行PE、PBA和PE+PBA治疗的情况进行分析,以寻求最佳的人工肝治疗方法。

表 2 3组患者治疗前后肝功能指标及肌酐变化情况 (mean ± SD)

实验室指标	PE组(n = 48)		PBA组(n = 47)		联合组(n = 55)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
丙氨酸转氨酶(U/L)	550.2 ± 289.3	238.1 ± 189.2 ^a	532.2 ± 270.7	286.8 ± 256.3 ^a	556.3 ± 256.1	256.8 ± 169.5 ^a
总胆红素(μmol/L)	410.3 ± 208.6	292.5 ± 175.4 ^a	432.7 ± 242.5	298.8 ± 201.7 ^a	468.2 ± 241.6	288.5 ± 184.5 ^a
白蛋白(g/L)	26.2 ± 6.2	29.0 ± 7.7 ^a	26.0 ± 6.9	23.8 ± 7.2 ^a	26.2 ± 5.6	28.4 ± 7.4 ^{ac}
凝血酶原时间(s)	31.5 ± 7.6	24.3 ± 6.8 ^b	31.0 ± 8.5	32.6 ± 7.7	31.2 ± 7.6	26.4 ± 7.8 ^{ac}
凝血酶原时间活动度(%)	31.2 ± 10.6	45.2 ± 11.1 ^b	30.8 ± 10.0	28.7 ± 8.8	31.4 ± 9.9	40.3 ± 8.9 ^{ac}
血氨(mmol/L)	95.5 ± 30.9	65.4 ± 29.5 ^b	98.8 ± 31.5	75.4 ± 28.1 ^a	96.3 ± 27.6	70.5 ± 29.0 ^b
肌酐(μmol/L)	152.1 ± 102.4	112.8 ± 98.4 ^b	139.7 ± 111.4	108.6 ± 103.5 ^a	151.4 ± 119.7	105.5 ± 108.7 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 同组治疗前; ^cP<0.05 vs PBA组. PE: 血浆置换; PBA: 血浆胆红素吸附.

表 3 不良反应发生率 n(%)

分组	PE组	PBA组	联合组	χ ²	P值
n	110	101	98		
皮疹	31.8(35/110)	17.8(18/101)	23.5(23/98)	245.760	0.000
畏寒寒战	29.1(32/110)	15.8(16/101)	20.4(20/98)	268.527	0.000
麻木、抽搐	16.4(18/110)	9.9(10/101)	11.1(11/98)	238.402	0.006
感染	7.3(8/110)	5.0(5/101)	5.1(5/98)	203.478	0.046
渗血、血肿	6.4(7/110)	5.0(5/101)	6.1(6/98)	196.589	0.078

PE: 血浆置换; PBA: 血浆胆红素吸附.

但治疗需大量血浆,成本很高、资源紧缺,且易发生血液传播性疾病,不良反应较多,同时会去除促肝细胞生长物质等有益成分,可能影响肝细胞再生及远期疗效,存在不可否认的局限性. PBA能部分替代肝脏功能,有效清除血浆中的蓄积毒素,阻断恶性循环,维持机体内环境稳定,提高肝衰竭的临床疗效,但吸附器和血浆分离器会非特异性吸附或损耗少量凝血因子、清蛋白、纤维蛋白原、生长激素等有益物质,对患者凝血功能并不能有效改善,治疗过程中抗凝也增加了出血风险,限制了其临床使用范围. 因此,我们将二者有机结合,先应用小剂量血浆行PE,序贯PBA,观察其疗效及安全性.

我们发现联合组治疗有效率65.45%,高于PE组和PBA组62.50%和59.58%,病死率联合组10.9%,低于PE组和PBA组12.5%和17.02%,但3组间差异均无统计学意义. 邢汉前等^[16,17]研究发现PBA联合PE治疗肝衰竭和高胆红素血症是安全有效的,并发症发生率低,且是可以防治的. 有学者报道序贯应用PE联合血浆灌流治疗肝衰竭能显著改善患者肝功能,阻止病情恶化,明显提高临床治愈好转率,疗效及并发症与应用单

纯PE相当^[18]. 联合组的优点在于应用少量的血浆取得和PE相当的临床疗效. 治疗过程中联合组和PBA组在皮疹、寒颤、抽搐、感染等方面明显低于PE组(P<0.05),且皮疹多发生于PE时,考虑上述不良反应与输入大量异体血浆有关,均经对症治疗后缓解,未发生影响治疗的严重不良反应. 静脉穿刺处出血、渗血3组间差异无统计学意义. 本研究结果与国内学者研究一致^[17-20]. 静脉穿刺处的出血、渗血主要与静脉穿刺时是否顺利,操作者技术是否熟练有关. 严格按照技术规范,提高穿刺水平可有效降低出血、渗血发生率.

我们研究发现3组患者治疗结束后ALT、TBIL显著降低(P<0.05),3组间差异无意义. 与治疗前相比联合组及PE组治疗后血清ALB升高,2组间差异均无意义;而PBA组血清ALB降低,联合组和PBA组,PE组与PBA组均存在统计学差异(P<0.01). 提示3种人工肝方法均可有效清除血浆胆红素,联合组和PE组可提高血清ALB水平. 邢汉前等^[16]发现联合治疗模式降低TBIL和胆汁酸的效果更为明显,治疗结束时TBIL平均下降52.7%,高于PE组的41.3%,同治疗前相比,

联合组ALB无明显变化, 而PE组血清ALB均明显减少. 本文与之不完全相符, 考虑原因为: (1) 本研究所使用的胆红素吸附柱为廊坊爱尔阴离子树脂血浆吸附柱, 不同的胆红素吸附柱对胆红素的吸附能力不一样, 导致治疗后血TBIL下降幅度不一致; (2) 本研究所使用的血浆分离器均为膜型血浆分离器, 在分离血浆的同时能保留大部分纤维蛋白、ALB等有益物质, 故联合组和PE组在置换大量正常血浆后, 血清ALB升高; 而PBA组在治疗过程中因不能补充血浆, 致治疗后血清ALB降低.

肝衰竭时存在多种凝血因子缺乏, PT及凝血酶原活动度(prothrombin time activity, PTA)不仅是判断肝衰竭的指标, 而且能判断分期, 预测肝衰竭患者的预后. 我们研究发现与治疗前相比联合组及PE组治疗后PT缩短($P<0.05$), PTA升高($P<0.05$), 2组间差异均无意义; 而PBA组PT、PTA变化不大, 联合组和PBA组, PE组与PBA组均存在统计学差异($P<0.01$). 本研究结果提示联合治疗和PE均可有效改善患者的凝血功能, 而PBA组对凝血功能影响不大. 蒋良君等^[21]发现PE后PT均低于治疗前, PTA均高于治疗前. PE可补充血浆ALB和凝血因子, 纠正凝血功能异常. PBA可非特异性的吸附少量凝血因子. 提示治疗后凝血机制的改善主要是补充了正常血浆的原因, 术中应用肝素对凝血机制影响不大, 与我们个体化应用肝素有关. 联合组的优点是应用少量的血浆改善凝血机制的效果与PE组相当.

我们研究发现3种人工肝治疗方法治疗后血氨和血Cr较治疗前均有明显降低($P<0.01$), 降低程度3组间差异无显著性意义($P>0.05$). 考虑原因为术中补充血浆和非特异性吸附所致. 但均不能改善患者的意识及昏迷程度, 考虑原因为间歇人工肝较难清除弥散分布在血管外的毒性物质所致. 邢霁远等^[22]发现血清TBIL、血氨、血Cr对于HBV相关肝衰竭患者死亡是独立危险因素. 本研究发现联合组可有效降低HBV相关肝衰竭患者血清TBIL、血氨、血Cr水平, 从而提高救治成功率.

初步研究表明, PE+PBA治疗方法安全、有效, 减少了血浆用量, 在一定程度上缓解了血浆短缺的困难, 可为更多乙型肝炎肝衰竭患者及时提供人工肝支持治疗, 有进一步扩大研究和推广应用的价值.

4 参考文献

- 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-10562
- 葛宗成, 许慧阳, 侯为顺, 喻艳林, 章顺国. 不同类型肝衰竭临床特点及其转归相关危险因素分析. 临床肝胆病杂志 2009; 25: 352-354
- 宋传芳, 刘冰熔. 急性肝衰竭的综合治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3237-3243
- 徐贞秋, 徐龙, 龙涛, 程欣. 慢加亚急(急)性肝衰竭与慢性肝衰竭的临床分析. 中外医疗 2009; 27: 52
- Zheng MH, Shi KQ, Fan YC, Li H, Ye C, Chen QQ, Chen YP. A model to determine 3-month mortality risk in patients with acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 351-356. e3 [PMID: 21195790]
- Liu C, Wang YM, Fan K. Epidemiological and clinical features of hepatitis B virus related liver failure in China. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3054-3059 [PMID: 21799653 DOI: 10.3748/wjg.v17.i25.3054]
- Zhang L, Han F, Wu D, Zhang D, Feng GH. [Analysis of the clinical features of and responsive factors on the prognosis in patients with fulminant hepatic failure]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2010; 18: 614-617 [PMID: 20825718]
- Sun QF, Ding JG, Xu DZ, Chen YP, Hong L, Ye ZY, Zheng MH, Fu RQ, Wu JG, Du QW, Chen W, Wang XF, Sheng JF. Prediction of the prognosis of patients with acute-on-chronic hepatitis B liver failure using the model for end-stage liver disease scoring system and a novel logistic regression model. *J Viral Hepat* 2009; 16: 464-470 [PMID: 19413694 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2008.01046.x]
- Yu JW, Sun LJ, Zhao YH, Li SC. Prediction value of model for end-stage liver disease scoring system on prognosis in patients with acute-on-chronic hepatitis B liver failure after plasma exchange and lamivudine treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1242-1249 [PMID: 18637053 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05484.x]
- 彭蕾, 周学士, 甘建和, 黄小平, 潘林林, 赵卫峰. 乙型肝炎肝衰竭短期预后的影响因素. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2732-2736
- Onodera K, Sakata H, Yonekawa M, Kawamura A. Artificial liver support at present and in the future. *J Artif Organs* 2006; 9: 17-28 [PMID: 16614798 DOI: 10.1007/s10047-005-0320-1]
- Li LJ, Yang Q, Huang JR, Xu XW, Chen YM, Fu SZ. Effect of artificial liver support system on patients with severe viral hepatitis: a study of four hundred cases. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2984-2988 [PMID: 15378778]
- 中华传染病与寄生虫病学会人工肝学组. 人工肝支持系统的适应证、禁忌证和疗效判断. 中华肝病杂志 2002; 10: 405
- 涂文辉, 侯伟, 金茜, 邱济海, 宋玉龙, 张惠娟. 单纯血浆置换术治疗肝衰竭30例临床分析. 中国现代医生 2012; 50: 31-33
- 刘传苗, 徐静, 张莉, 翟惠. 血浆置换治疗肝衰竭临床分析. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 241-243
- 邢汉前, 高登莲, 赵鸿, 张彬, 洪艳清, 刘振红, 刘俊微, 钟志芳, 吕平, 赵军. 血浆吸附灌流联合血浆置换治疗肝衰竭和高胆红素血症的临床研究. 传染病信息 2009; 22: 284-287
- 邢汉前, 高登莲, 赵鸿, 张彬, 刘俊微, 刘素霞, 钟志芳,

■应用要点

PE+PBA治疗模式可应用少量的血浆, 达到与PE、PBA相当的疗效, 且降低了不良反应发生率, 可为更多乙型肝炎肝衰竭患者及时提供人工肝支持治疗, 有进一步扩大研究和推广应用的价值.

■同行评价

尽管开展人工肝方法治疗肝衰竭已经多年,但本文对临床工作仍有一定的参考价值.

- 颜丽, 赵军. 胆红素吸附联合血浆置换治疗肝功能衰竭和高胆红素血症的并发症防治. 生物医学工程与临床 2010; 14: 494-497
- 18 范晶华, 韦嘉, 段志文, 张红兵, 杨微波, 戴虹. 序贯应用血浆置换联合血浆灌流治疗肝衰竭的临床观察. 昆明医学院学报 2010; (3): 75-78
- 19 蒋玉凤, 倪艳, 王英. 血浆置换与血浆灌流联合治疗肝衰竭患者的不良反应观察. 中国当代医药 2012; 19: 64-65
- 20 杨杰, 王惠明, 杨聚荣, 任姜汶, 王云燕, 何娅妮. 血浆置换与胆红素吸附治疗肝衰竭的临床研究. 中国血液净化 2010; 9: 624-626
- 21 蒋良君, 阳学风, 吴清, 彭辉, 傅念. 血浆置换在肝衰竭治疗中的临床应用体会. 中国现代医药杂志 2012; 14: 24-26
- 22 邢零远, 余祖江. 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭死亡相关因素分析127例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 537-540

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围.其中A+(权威期刊)取前5%;A(核心期刊)取前5%-20%;A-(扩展核心期刊)取前20%-30%;B+(准核心期刊)取前30%-50%;B(一般期刊)取前50%-80%;C(较差期刊)为80%-100%.

胰腺癌中LIF的表达及其临床病理学意义

彭飞, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明

彭飞, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

彭飞, 在读硕士, 主要从事胰腺癌微环境的研究.

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20092131

作者贡献分布: 此课题由周建平与彭飞设计; 研究过程由周建平、彭飞、盛伟伟、张丹华及董明操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周建平提供; 数据分析由彭飞、盛伟伟及张丹华完成; 本论文写作由彭飞完成; 周建平修改; 董明审核.

通讯作者: 周建平, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市南京北街, 中国医科大学附属第一医院普通外科. zjphama@163.com
收稿日期: 2013-04-18 修回日期: 2013-05-17

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-08

Clinicopathological significance of expression of leukaemia inhibitory factor in human pancreatic ductal adenocarcinoma

Fei Peng, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong

Fei Peng, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Department of General Surgery, First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Liaoning Province, China, No. 20092131

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, First Hospital of China Medical University, Nanjing North Street, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-04-18 Revised: 2013-05-17

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To examine the expression of leukaemia inhibitory factor (LIF) in human pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) and to analyze its clinicopathological significance.

METHODS: The expression of LIF protein was detected by immunohistochemistry in 53 paraffin-embedded PDAC specimens and matched tumor-adjacent non-cancerous pancreatic tissue specimens. The relationship between LIF protein expression and clinicopathological parameters of PDAC was analyzed. Western blot was used to examine the expression of LIF in 14 fresh PDAC specimens and matched tumor-adjacent non-cancerous pancreatic tissues.

RESULTS: The positive rate of LIF expression was increased in 53 cases of PDAC compared to matched normal tissues (66.0% vs 35.8%; $t = 3.031$, $P = 0.004$). LIF expression was positively associated with tumor TNM stage ($\chi^2 = 3.635$, $P = 0.057$) and invasion depth ($\chi^2 = 3.726$, $P = 0.054$). Univariate analysis revealed that LIF expression may be an adverse prognostic factor for patients with PDAC ($\chi^2 = 3.233$, $P = 0.072$). LIF expression was much higher in 14 cases of PDAC than in tumor-adjacent normal pancreatic tissues ($t = 5.283$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Overexpression of LIF may contribute to the development and progression of PDAC. Expression of LIF may be used to predict the prognosis of PDAC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic ductal adenocarcinoma; Leukaemia inhibitory factor; Prognosis

Peng F, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M. Clinicopathological significance of expression of leukaemia inhibitory factor in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1877-1881 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1877.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1877>

摘要

目的: 探讨胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)中白血病抑制因子(leukaemia inhibitory factor, LIF)表达相关性及其临床病理学意义.

方法: 应用免疫组织化学方法检测53对配对的PDAC及癌旁组织石蜡标本LIF蛋白表达水平, 并分析LIF表达与患者临床病理学各项指标的关系, 再以Western印迹法检测14对配对冷冻保存的新鲜PDAC和癌旁组织中LIF表达水平.

结果: 免疫组织化学结果显示LIF在癌组织中表达明显高于配对的癌旁组织(66.0% vs 35.8%; $t = 3.031$, $P = 0.004$); LIF表达与肿瘤

■背景资料

目前白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)在白血病、子宫内膜癌、乳腺癌、脑胶质瘤等肿瘤中研究很热, 基于此, LIF与胰腺癌的关系方面的研究成为研究热点.

■同行评议者

朴龙镇, 副教授, 延边大学附属医院肿瘤科; 魏继福, 研究员, 江苏省人民医院

■ 研究前沿

LIF在胰腺癌高表达可能参与胰腺癌的发生进展, LIF表达可能有助于判断胰腺癌患者的预后。

TNM分期($\chi^2 = 3.635, P = 0.057$)、浸润深度($\chi^2 = 3.726, P = 0.054$)接近统计学意义。单因素分析发现LIF可能是影响胰腺癌患者预后的一个相关危险因素($\chi^2 = 3.233, P = 0.072$)接近统计学意义。LIF在14例PDAC中表达水平同样高于癌旁组织($t = 5.283, P < 0.01$)。

结论: LIF在胰腺癌高表达可能参与胰腺癌的发生进展, LIF表达可能有助于判断胰腺癌患者预后。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 白血病抑制因子; 预后

核心提示: 白血病抑制因子(leukaemia inhibitory factor, LIF)在胰腺癌高表达可能参与胰腺癌的发生进展, LIF表达可能有助于判断胰腺癌患者的预后, 基于此研究结果, 未来很有可能通过检测胰腺癌组织LIF表达作为评价患者预后的参考指标, 或许也能为胰腺癌的靶向治疗及个体化治疗提供了参考依据。

彭飞, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明. 胰腺癌中LIF的表达及其临床病理学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1877-1881
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1877.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1877>

0 引言

胰腺癌作为恶性程度最高的致死性肿瘤之一, 其位居美国肿瘤死亡第5位, 国内有逐年增加趋势, 居恶性肿瘤死亡原因的第4位^[1,2]。这些年来, 尽管随着诊断技术和治疗手段不断提高, 但其5年生存率仅为5%左右^[3]。其主要原因是胰腺癌早期诊断困难, 较早发生血液或淋巴转移。因此探寻有助于早期诊断及判断预后的分子标志物对胰腺癌的诊断和治疗有重大意义。

白血病抑制因子(leukaemia inhibitory factor, LIF)现已证实属于白介素-6(interleukin-6, IL-6)细胞因子家族中的一员。在恶性血液病、胶质母细胞瘤、乳腺癌、甲状腺癌、子宫内膜癌等肿瘤组织和细胞中都发现LIF不同程度的表达^[4-8], 但在胰腺癌研究中少有报道, 本文采用免疫组织化学和Western印迹法检测胰腺癌中LIF的表达, 并结合患者的临床病例资料进行分析, 旨在探讨LIF在胰腺癌中的表达特点其临床病理学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-01/2012-12我院具有完整临

床资料的胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)手术切除标本53例, 均有癌旁组织作为对照。另有14例PDAC及配对的癌旁新鲜标本, 置液氮中冷冻保存。53例患者术后病理证实为导管腺癌, 患者中男34例, 女19例, 年龄33-81岁, 中位年龄57岁, 根据2010年UICC的TNM分期指南, 将胰腺癌患者分为I (I A + I B)、II A、II B和III期(无IV期患者)。每位患者均有完整随访资料。LIF抗体购自美国RD公司。SP法免疫组织化学试剂盒、DAB显色液购自福州迈新公司。蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、上样缓冲液、BCA定量及ECL发光试剂盒均购自上海碧云天生物公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学SP法: 所有组织标本均经10%福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片, 以二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。PBS清洗后, 置于pH 6.0的柠檬酸缓冲液高压热抗原修复2 min, 自然冷却。3%过氧化氢室温15 min去除内源性过氧化酶。血清室温封闭20 min后滴加一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日依次滴加二抗及霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶37 $^{\circ}\text{C}$ 20 min, PBS清洗, DAB显色, 苏木素复染。盐酸乙醇分化后常规脱水、透明, 封片后于光学显微镜下观察结果。

1.2.2 Western印迹: 提取冷冻保存的癌和癌旁正常组织, 经BCA定量试剂盒测定蛋白浓度, 样品均定量为5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 每泳道上样50 μg , 经10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜(聚偏二氟乙烯PVDF), 封闭缓冲液(0.1 mmol/L三羟甲基氨基甲烷缓冲液盐水TBS, 5%脱脂奶粉, 0.1%吐温)封闭, 加入一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 二抗室温孵育2 h, TBST洗净后, ECL发光并以凝胶显像仪(MF-chemibis 3.2 DNR, 以色列)显像。

1.2.3 阳性结果判定: LIF为胞浆着色为阳性反应。阳性结果判定: 参考Yokoyama等^[9]文献评分方法: 每张切片400倍显微镜下随机选取5个视野: (1)阳性细胞数: 计算5个视野的阳性细胞的平均百分数分为4级: 阳性细胞数1%-24%为1分; 25%-49%为2分; 50%-74%为3分; >75%为4分; (2)染色强度: 无着色0分; 浅黄色1分; 黄或深黄色2分; 褐或棕褐色3分, 上述两项相乘为分级标准: ≥ 6 分定义为高表达。Western印迹结果运用quantity one软件, 根据ECL发光成像后条带和电泳条带的面积和密度计算每个条带的灰度值。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 配对的癌与癌旁组织蛋白和LIF表达水平比较采用

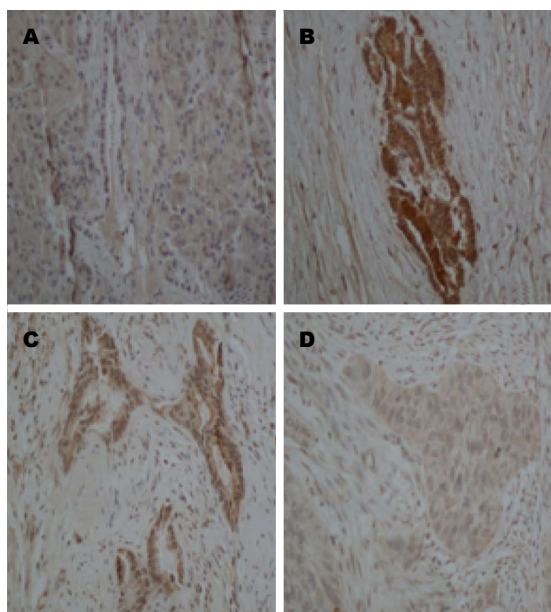


图1 正常胰腺癌旁组织及胰腺癌组织中白血病抑制因子蛋白的表达($\times 200$)。A: 癌旁正常胰腺组织; B: 在胰腺癌组织中的高表达; C: 中表达; D: 低表达。

配对 t 检验。LIF蛋白表达相关性及其与患者临床病理学参数的关系采用 χ^2 检验。Kaplan-Meier单因素分析计算累积生存率; Log-Rank进行生存时间差异检验; Cox多因素分析评估影响预后的独立因素。Western印迹结果取目的蛋白在癌或癌旁组织条带灰度(吸光度)/GAPDH灰度值(吸光度值)得对数值, 使其呈正态分布, 配对 t 检验进行统计学分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LIF在PDAC和癌旁组织中表达 LIF在PDAC中表达率66.0%(35/53), 在癌旁组织中表达率35.8%(19/53); LIF在癌组织中表达明显高于配对的癌旁组织($t = 3.031$, $P = 0.004$)。LIF阳性染色均定位于胰腺导管细胞浆和胞核, 呈棕黄色颗粒, 其表达呈明显异质性。少量表达于胰腺正常腺泡细胞, 胰岛细胞无表达(图1)。

2.2 LIF蛋白表达与PDAC患者临床病理学参数关系 LIF蛋白表达水平与胰腺PDAC患者性别($\chi^2 = 2.373$, $P = 0.123$)、年龄($\chi^2 = 0.002$, $P = 0.965$)、肿瘤部位($\chi^2 = 2.628$, $P = 0.105$)、分化程度($\chi^2 = 0.484$, $P = 0.487$)、浸润深度($\chi^2 = 3.726$, $P = 0.054$)、TNM分期($\chi^2 = 3.635$, $P = 0.057$)及淋巴结转移($\chi^2 = 0.231$, $P = 0.631$)等指标均无明显统计学意义($P > 0.05$), 但LIF的表达与肿瘤TNM分期($\chi^2 = 3.635$, $P = 0.057$)、浸润深度($\chi^2 = 3.726$, $P = 0.054$)接近统计学意义(表1)。

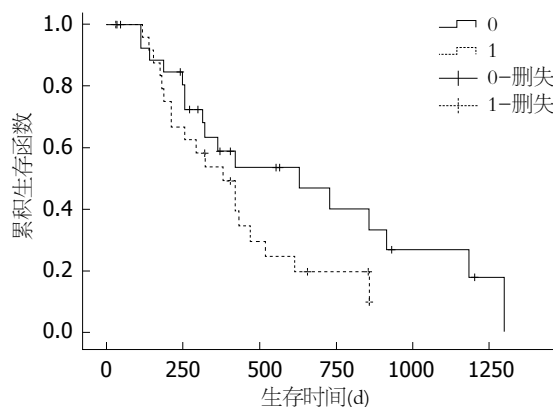


图2 累积Kaplan-Meier生存曲线。1: LIF高表达组; 0: LIF低表达组。LIF: 白血病抑制因子。

2.3 LIF蛋白表达与胰腺癌患者术后生存关系 单因素分析发现: 胰腺癌患者预后年龄($P = 0.800$, 中位生存时间: ≤ 65 岁者418 d vs > 65 岁者420 d)、性别($P = 0.674$, 中位生存时间: 男性患者432 d vs 女性患者365 d)、肿瘤部位($P = 0.150$, 中位生存时间: 胰头者291 d vs 胰体尾者432 d)、浸润深度($P = 0.752$, 中位生存时间: T1+T2者615 d vs T3+T4者380 d)、TNM分期($P = 0.162$, 中位生存时间: I + II A者468 d vs II B+III者257 d)等相关的因素都无明显的统计学意义。但低表达LIF的胰腺癌患者术后中位生存时间为468 d, 高表达LIF的胰腺癌患者中位生存时间为365 d, 两者比较接近统计学意义($\chi^2 = 3.233$, $P = 0.072$, 图2)。

2.4 Western印迹结果分析 Western印迹显示癌旁胰腺组织黏膜LIF/GAPDH灰度比为 0.066 ± 0.022 , 癌组织为 0.210 ± 0.071 , 两者之间有明显统计学差异($t = 5.283$, $P < 0.01$)(图3)。

3 讨论

LIF是上世纪80年代首次发现并命名一个多功能的新细胞因子, 现已证实属于IL-6细胞因子家族中一个新成员, LIF广泛存在于不同种属的多种组织中, 现已在活化的T细胞、单核细胞、肝成纤维细胞、胚胎干细胞、胸腺上皮细胞、骨髓基质细胞等多种细胞发现有LIF的表达^[10]。正常情况下组织和外周血循环中LIF的表达量极低^[11]。首次发现LIF基因在白血病中低表达, 并与肿瘤的发生发展关系密切, 此后的一些研究表明, LIF基因在子宫内膜癌、乳腺癌、脑胶质瘤等恶性肿瘤中存在高表达, 推测该因子对多数实体肿瘤表现出促进作用^[5,8,12,13], 而对大多数非实体肿瘤具有抑制其增殖作用^[4,14]。

本实验采用免疫组织化学法检测53例

■ 相关报道

Kamohara等通过运用MTT实验检测LIF对7株胰腺癌细胞株增殖的影响, 结果发现LIF在体外培养的情况下可促进胰腺癌Hs-766T细胞和Hs-700T细胞增殖。然而LIF在胰腺癌组织中的研究鲜有报道。

■创新盘点

本文研究LIF在胰腺癌组织表达的同时,将LIF表达与各临床参数间的关系作了详细分析,发现LIF的表达与肿瘤TNM分期、浸润深度都达到边缘统计学意义。

表 1 LIF表达与胰腺癌患者临床病理学参数关系

参数	n	LIF蛋白表达		χ^2	P值
		阴性	阳性		
n	53	18	35		
年龄(岁)				0.002	0.965
≤65	44	15	29		
>65	9	3	6		
性别				2.373	0.123
男	34	9	25		
女	19	9	10		
肿瘤部位				2.628	0.105
胰头	37	10	27		
胰体尾	16	8	8		
肿瘤大小(cm)				0.810	0.776
<2.5	28	10	18		
≥2.5	25	8	17		
分化程度				0.484	0.487
中低分化	30	9	21		
高分化	23	9	14		
浸润深度				3.726	0.054
T1+T2	10	6	4		
T3+T4	43	12	31		
TNM分期 ¹				3.635	0.057
I+IIA	35	15	20		
IIB+III	18	3	15		
术前CA19-9水平(U/mL)				0.496	0.481
<37	15	4	11		
≥37	38	14	24		
淋巴结转移				0.231	0.631
N0(阴性)	36	13	23		
N1(阳性)	17	5	12		
术后肝转移				0.247	0.620
无	39	14	25		
有	14	4	10		

¹TNM分期根据 2010年UICC指南。LIF: 白血病抑制因子。

PDAC及癌旁正常胰腺组织中LIF蛋白表达水平,结果显示:胰腺癌组织中LIF阳性表达率为66.0%(35/53例),而在癌旁非肿瘤性胰腺癌导管中阳性表达率为35.8%(19/53例),并且LIF蛋白表达在PDAC中较癌旁正常胰腺组织有较明显升高($P<0.05$),再结合患者临床病理资料分析发现。LIF过表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、肿瘤分化程度、浸润深度、TNM分期、术前CA199水平、远处转移无相关性($P>0.05$),但LIF的表达与肿瘤TNM分期($\chi^2 = 3.635, P = 0.057$)、浸润深度($\chi^2 = 3.726, P = 0.054$)达到边缘统计学意义。这可能是由于样本量不足,我们将通过增加样本量,进一步明确

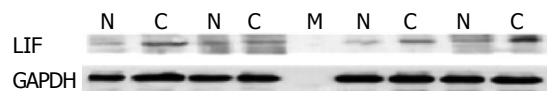


图 3 14例配对的胰腺癌及癌旁组织中LIF蛋白的表达。N: 癌旁组织; C: 腺癌组织。LIF: 白血病抑制因子。

LIF和肿瘤TNM分期及浸润深度的关系。本研究通过单因素分析发现:胰腺癌的预后与患者性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、肿瘤分化程度、浸润深度、TNM分期等相关的因素都无明显的统计学意义($P>0.05$),但高表达LIF的胰腺PDAC患者比低表达LIF患者术后中位生存时间明显缩短,两者比较接近统计学意义($\chi^2 = 3.233, P = 0.072$)。这可能是由于样本量不足、随访时间不完善所致。我们将通过增加样本量,完善随访,进一步证实LIF和预后的关系。最后本研究通过Western印迹进一步验证了LIF蛋白在癌和癌旁组织表达有明显差异($t = 5.283, P<0.01$)。

LIF在胰腺癌组织中的研究较少,鲜有报道,Kamohara等^[15]研究发现LIF在体外培养的情况下可促进胰腺癌Hs-766T细胞和Hs-700T细胞增殖。提示LIF可能影响肿瘤的发生发展,但具体机制仍有待于进一步研究,总之,通过检测胰腺癌组织LIF表达有着重要的临床意义,LIF有可能作为评价患者预后的参考指标,同时也为胰腺癌的靶向治疗及个体化治疗提供了参考依据,从而为提高患者疗效,延长患者生存期具有重要意义。

总之,LIF在胰腺癌中高表达可能参与胰腺癌的发生进展,LIF表达可能有助于判断胰腺癌患者预后。

4 参考文献

- Günzburg WH, Salmons B. Novel clinical strategies for the treatment of pancreatic carcinoma. *Trends Mol Med* 2001; 7: 30-37 [PMID: 11427987 DOI: 10.1016/S1471-4914(00)01865-7]
- Ohuchida K, Mizumoto K, Murakami M, Qian LW, Sato N, Nagai E, Matsumoto K, Nakamura T, Tanaka M. Radiation to stromal fibroblasts increases invasiveness of pancreatic cancer cells through tumor-stromal interactions. *Cancer Res* 2004; 64: 3215-3222 [PMID: 15126362 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2464]
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249 [PMID: 19474385 DOI: 10.3322/caac.20006]
- Iwamoto T, Senga T, Adachi K, Hamaguchi M. Stat3-dependent induction of interleukin-3 receptor expression in leukemia inhibitory factor-stimulated M1 mouse leukemia cells. *Cytokine* 2004; 25: 136-139

- [PMID: 14698140 DOI: 10.1016/j.cyto.2003.10.009]
- 5 Peñuelas S, Anido J, Prieto-Sánchez RM, Folch G, Barba I, Cuartas I, García-Dorado D, Poca MA, Sahuquillo J, Baselga J, Seoane J. TGF-beta increases glioma-initiating cell self-renewal through the induction of LIF in human glioblastoma. *Cancer Cell* 2009; 15: 315-327 [PMID: 19345330 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.02.011]
- 6 Rhee DK, Park SH, Jang YK. Molecular signatures associated with transformation and progression to breast cancer in the isogenic MCF10 model. *Genomics* 2008; 92: 419-428 [PMID: 18804527 DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.08.005]
- 7 Arthan D, Hong SK, Park JI. Leukemia inhibitory factor can mediate Ras/Raf/MEK/ERK-induced growth inhibitory signaling in medullary thyroid cancer cells. *Cancer Lett* 2010; 297: 31-41 [PMID: 20570039 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.04.021]
- 8 Mylonas I, Makovitzky J, Shabani N, Richter DU, Kuhn C, Jeschke U, Briese V, Friese K. Leukaemia inhibitory factor (LIF) is immunohistochemically expressed in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118: 101-108 [PMID: 15596282 DOI: 10.1016/j.ejogrb.2004.06.022]
- 9 Yokoyama M, Yamanaka Y, Friess H, Buchler M, Korc M. p53 expression in human pancreatic cancer correlates with enhanced biological aggressiveness. *Anticancer Res* 1994; 14: 2477-2483 [PMID: 7872670]
- 10 Hisaka T, Desmoulière A, Taupin JL, Daburon S, Neaud V, Senant N, Blanc JF, Moreau JF, Rosenbaum J. Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) and its receptor gp190 in human liver and in cultured human liver myofibroblasts. Cloning of new isoforms of LIF mRNA. *Comp Hepatol* 2004; 3: 10 [PMID: 15566573 DOI: 10.1186/1476-5926-3-10]
- 11 Brown MA, Metcalf D, Gough NM. Leukaemia inhibitory factor and interleukin 6 are expressed at very low levels in the normal adult mouse and are induced by inflammation. *Cytokine* 1994; 6: 300-309 [PMID: 8054487]
- 12 García-Tuñón I, Ricote M, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R, Royuela M. OSM, LIF, its receptors, and its relationship with the malignance in human breast carcinoma (in situ and in infiltrative). *Cancer Invest* 2008; 26: 222-229 [PMID: 18317962 DOI: 10.1080/07357900701638491]
- 13 Shin JE, Park SH, Jang YK. Epigenetic up-regulation of leukemia inhibitory factor (LIF) gene during the progression to breast cancer. *Mol Cells* 2011; 31: 181-189 [PMID: 21191816 DOI: 10.1007/s10059-011-0020-z]
- 14 Tanuma N, Nakamura K, Shima H, Kikuchi K. Protein-tyrosine phosphatase PTPepsilon C inhibits Jak-STAT signaling and differentiation induced by interleukin-6 and leukemia inhibitory factor in M1 leukemia cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 28216-28221 [PMID: 10859312]
- 15 Kamohara H, Ogawa M, Ishiko T, Sakamoto K, Baba H. Leukemia inhibitory factor functions as a growth factor in pancreas carcinoma cells: Involvement of regulation of LIF and its receptor expression. *Int J Oncol* 2007; 30: 977-983 [PMID: 17332938]

■同行评价

本文探讨LIF与胰腺癌的关系, 研究内容新颖, 对临床有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

功能性消化不良患者针刺治疗后对针刺足三里脑的响应

李政杰, 曾芳, 杨玥, 张丹华, 陈媛, 孙金铂, 秦伟, 杨洁, 梁繁荣

■背景资料

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是消化科最常见的疾病, 表现为一组常见的上腹疼痛或不适症状 (包括上腹胀、早饱、烧灼感、嗝气、恶心呕吐以及难以描述的上腹部不适感等), 并且无可以解释症状的器质性疾病证据。目前有研究表明 FD 患者大脑功能和结构存在一定异常。针刺作为一种传统的治疗手段, 目前有高质量随机对照研究表明针刺能够改善 FD 患者症状和情绪状况, 然而其作用机制不明。利用先进的功能成像技术可望为针刺治疗 FD 的作用特点提供新的思路。

李政杰, 曾芳, 张丹华, 陈媛, 杨洁, 梁繁荣, 成都中医药大学针灸推拿学院 四川省成都市 610075

杨玥, 四川省人民医院身心疾病科 四川省成都市 610075
孙金铂, 西安电子科技大学生命科学院 陕西省西安市 710126

李政杰, 主要从事针刺影像学的研究。

国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 基金资助项目, No.

2012CB518501

国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 81001504

作者贡献分布: 本实验由梁繁荣与曾芳设计; 研究过程由李政杰、杨玥、张丹华、陈媛及杨洁操作完成; 数据分析由李政杰、孙金铂及秦伟完成; 本文写作由李政杰完成。

通讯作者: 梁繁荣, 教授, 610075, 四川省成都市金牛区十二桥路 37 号, 成都中医药大学. acuresearch@126.com

收稿日期: 2013-04-25 修回日期: 2013-05-16

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Cerebral responses to puncturing at ST36 after acupuncture treatment in patients with functional dyspepsia

Zheng-Jie Li, Fang Zeng, Yue Yang, Dan-Hua Zhang, Yuan Chen, Jin-Bo Sun, Wei Qin, Jie Yang, Fan-Rong Liang

Zheng-Jie Li, Fang Zeng, Yuan Chen, Dan-Hua Zhang, Jie Yang, Fan-Rong Liang, School of Acupuncture and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China

Yue Yang, Department of Psychosomatic Medicine, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610075, Sichuan Province, China

Jin-Bo Sun, Wei Qin, School of Life Sciences and Technology of Xidian University, Xi'an 710126, Shaanxi Province, China

Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2012CB518501; the Youth Project of National Natural Science Foundation of China, No. 81001504

Correspondence to: Fan-Rong Liang, Professor, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 37 Shierqiao Road, Jinniu District, Chengdu 610075, Sichuan Province, China. acuresearch@126.com

Received: 2013-04-25 Revised: 2013-05-16

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To assess cerebral responses to puncturing at ST36 after 4 wk of acupuncture treatment in patients with functional dyspepsia (FD) and healthy subjects (HS).

METHODS: In this study, 24 FD patients and 24 HS underwent acupuncture stimulation at ST36 and were monitored under an fMRI scan. FD patients received 4 courses of acupuncture treatment before acupuncture stimulation at ST36. The difference in fMRI data was compared between the two groups using SPM5 software.

RESULTS: After 4 wk of acupuncture treatment, Nepean dyspepsia index score (38.21 ± 9.925 vs 52.50 ± 13.53 , $P < 0.05$), dyspepsia symptom score (0.66 ± 0.56 vs 1.41 ± 0.29 , $P < 0.05$), self-rating anxiety scale score (35.21 ± 6.131 vs 41.72 ± 6.735 , $P < 0.05$) and self-rating depression scale score (37.50 ± 9.178 vs 43.02 ± 8.429 , $P < 0.05$) were significantly decreased in FD patients. Compared with HS, FD patients showed fMRI signal decrease in the right supramarginal gyrus, bilateral postcentral gyrus, left precentral gyrus, bilateral superior occipital gyrus, bilateral middle occipital gyrus, bilateral cuneus, left superior frontal gyrus, left superior parietal gyrus, bilateral middle temporal gyrus, right lingual gyrus, right fusiform gyrus and right calcarine gyrus, but fMRI signal increase in the left thalamus.

CONCLUSION: Acupuncture could improve the symptoms and emotion of FD patients. After 4 wk of acupuncture treatment, the central modulation pattern of acupuncture for FD symptoms-related brain regions seems to be non-specific.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acupuncture; Functional dyspepsia; Functional magnetic resonance imaging; Zusanli (ST36)

Li ZJ, Zeng F, Yang Y, Zhang DH, Chen Y, Sun JB, Qin W, Yang J, Liang FR. Cerebral responses to puncturing at ST36 after acupuncture treatment in patients with functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1882-1887 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1882.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1882>

摘要

目的: 观察功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 患者针刺治疗后对比健康受试

■同行评议者

李勇, 副教授, 上海中医药大学附属中医医院消化科

者即时针刺足三里脑响应的差异。

方法: 本研究纳入24例正常受试者, 24例FD患者。FD患者接受4 wk针刺治疗后进行即时针刺足三里fMRI扫描, 正常人只接受即时针刺足三里fMRI扫描。使用SPM5软件, 基于广义线性模型比较FD患者及正常人即时针刺足三里fMRI数据差异。

结果: FD患者针刺治疗后, 尼平消化不良指数(nepean dyspepsia index)评分积分显著减低(38.21 ± 9.925 vs 52.50 ± 13.53 , $P < 0.05$)、消化不良症状积分显著减低($0.66 \pm .56$ vs $1.41 \pm .29$, $P < 0.05$)、焦虑自评量表(self-rating depression scale)积分显著减低(35.21 ± 6.131 vs 41.72 ± 6.735 , $P < 0.05$)、抑郁自评量表(self-rating anxiety scale)积分显著减低(37.50 ± 9.178 vs 43.02 ± 8.429 , $P < 0.05$)。即时针刺足三里, FD患者相较于健康受试者, 右侧缘上回、双侧中央后回、左侧中央前回、双侧枕上回、双侧枕中回、双侧楔叶、左侧额上回、左侧顶上回、双侧颞中回、右侧舌回、右侧梭状回和右侧距状回的fMRI信号为负激活, 而左侧丘脑呈现出fMRI信号正激活。

结论: 针刺治疗可改善FD患者症状和情绪状态, 累积针刺治疗后即时针刺足三里对FD患者病情相关靶向脑区的调节作用可能不具有特异性。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 针刺; 功能性消化不良; 功能性核磁共振成像; 足三里

核心提示: 针刺治疗可改善功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)患者症状和情绪状态, 累积针刺治疗后即时针刺足三里对FD患者病情相关靶向脑区的调节作用可能不具有特异性。本研究应用先进的功能核磁共振成像技术, 从中枢角度探讨针刺对FD的作用特点, 为针刺治疗FD的研究提供了新的思路和借鉴。

李政杰, 曾芳, 杨玥, 张丹华, 陈媛, 孙金铂, 秦伟, 杨洁, 梁繁荣. 功能性消化不良患者针刺治疗后对针刺足三里脑的响应. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1882-1887 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1882.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1882>

0 引言

近年来, 运用脑功能成像技术无创、在体、实时、可视化探讨针刺效应的中枢机制成为针刺

研究的热点^[1]。而大多数针刺影像学研究或探讨针刺疗程效应, 或研究健康人即时针刺效应, 或讨论患者治疗前即时针刺效应, 少有研究观察针刺治疗后即时针刺效应。因此, 本研究拟以针刺调理胃肠和预防保健的要穴足三里为针刺点, 以针刺足三里治疗的优势病种功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)和健康状态为研究对象, 以观察FD针刺治疗后对比健康人即时针刺足三里对脑功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究纳入24名FD患者, 24名健康受试者, 均为汉族, 来源于成都中医药大学校园公开招聘。该研究遵照赫尔辛基宣言, 并通过了成都中医药大学伦理委员会伦理审核。FD诊断标准: 2006年罗马III学术委员会制定的FD的疾病诊断标准。FD患者纳入标准: 右利手, 大专以上学历, 年龄在20-30岁之间; 符合FD亚型-餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)的分型标准; 入组前15 d内, 未参加其他临床研究, 未服用任何胃肠促动力的药物; 签署知情同意书。排除标准: 精神病患者; 有心血管、肝、肾、消化、内分泌、造血系统等严重原发性疾病者; 有明显的头痛, 头部外伤史者; 有严重痛经症状的女性患者; 有严重的抑郁、焦虑症状者; 孕妇及哺乳期妇女; 有fMRI扫描禁忌及幽闭恐惧综合征等心理疾患; 有针刺禁忌, 如出血倾向等。健康受试者纳入标准: 右利手, 大专以上学历, 年龄在20-30岁; 体检显示身体健康; 无任何消化系统症状及不适; 15 d内未参加其他临床研究; 签署知情同意书。健康受试者排除标准: 孕妇及哺乳期妇女; 伴有轻度及以上抑郁、焦虑症状者; 有fMRI扫描禁忌及幽闭恐惧综合征等心理疾患。

1.2 方法 FD患者只单纯接受4疗程针刺治疗, 正常人不接受任何治疗。本研究所有针刺操作所采用针具为不锈钢一次性针灸针, 规格: $\phi 0.25$ mm \times 40 mm(华佗牌, 苏州华佗医疗用品有限公司)。

1.2.1 选穴: 取双侧足三里。穴位定位参照2006年中华人民共和国国家标准(GB/T 12346-2006)《腧穴名称与定位》的定位标准。

1.2.2 操作: 本试验的所有针刺操作均由已取得执业医师资格证的同一名针灸医师完成。医师操作者手及受试者穴区消毒后, 采用爪切进针法, 直刺0.3-0.5寸入穴位后, 行平补平泻手法, 捻转的角度在90-180度, 频率在60-90次/min, 提

■研究前沿

FD发病率高, 但发病机制不明。以往研究多从外周角度研究FD, 未取得突破进展。近期有研究者利用先进的脑功能成像技术如PET-CT和fMRI发现FD患者相较健康人脑功能和结构存在异常, 主要表现在脑肠轴和脑自稳态网络的异常。基于以往大量针刺机制研究发现针刺的作用途径主要通过中枢整合, 利用fMRI技术可望为针刺治疗FD的作用机制研究提供有力支持。目前已有研究表明针刺对FD患者病情相关脑区具有良性调节作用。

■相关报道

FD是消化科最常见的疾病,然而其发病机制不明.目前随着神经影像学技术的发展,有人利用先进的PET-CT和fMRI技术发现了FD患者的脑功能与脑结构与健康人相比均存在异常.近期有高质量随机对照针刺临床研究发现针刺能够改善FD患者症状和情绪状况,并且有PET-CT研究发现针刺能够良性调节FD患者病情相关核心脑区.这为本课题的研究提供了有力的文献支持.

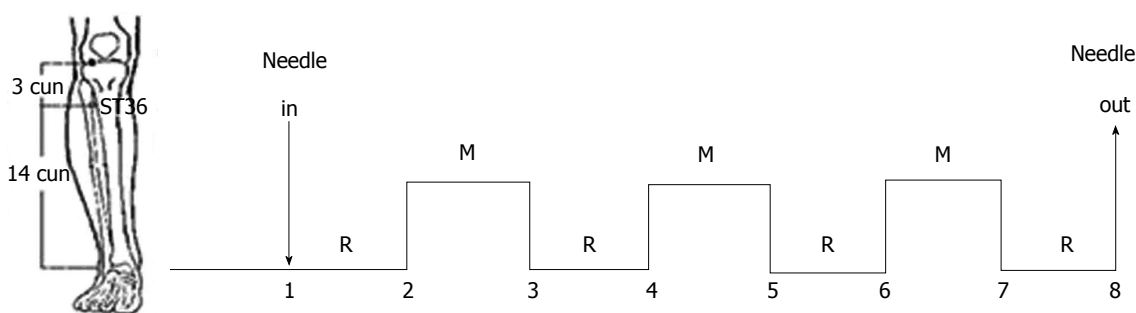


图1 即时针刺足三里fMRI扫描Block流程图. M: 行针刺刺激, R: 休息不行针.

表1 功能性消化不良患者与健康受试者人口学资料的比较 (mean ± SD)

分组	性别n(%)		年龄(岁)	体质量(kg)	身高(cm)
	男	女			
FD患者(n = 24)	8(33.33)	16(66.67)	22.33 ± 1.078	52.71 ± 7.104	163.38 ± 7.511
健康人(n = 24)	9(37.50)	15(62.50)	21.96 ± 0.908	50.56 ± 6.703	162.38 ± 7.119
P值	—		0.424	0.287	0.638

插的幅度在0.3-0.5 cm, 频率在60-90次/min. 提插捻转得气后, 留针30 min, 留针过程中每10 min行针1次, 共行针3次, 行针时间为10-15 s/次.

1.2.3 疗程: 1次/d, 5 d为1疗程, 疗程间休息2 d, 连续治疗4个疗程.

1.2.4 即时针刺足三里: FD患者在4 wk针刺治疗后, 行即时针刺足三里fMRI扫描. 健康受试者只行即时针刺足三里fMRI扫描. BOLD-fMRI扫描开始, 同步计时, 受试者休息1 min后, 消毒并采用单手进针法刺入右侧足三里0.3-0.5寸, 继续休息1 min后, 开始行针1 min, 紧接着休息1 min, 然后行针1 min, 休息1 min, 行针1 min, 最后休息1 min后出针, 扫描结束, 整个扫描过程持续8 min(图1). 行针手法: 捻转的角度在90-180度, 频率在60-90次/min, 提插的幅度在0.3-0.5 cm, 频率在60-90次/min.

1.2.5 临床观察指标: (1)人口学资料: 主要对FD患者, 健康受试者的性别、年龄、身高和体质量等进行观察; (2)情绪量表: 采用抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)和焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)对FD患者针刺治疗前后自身的情绪状况进行评价; (3)病情资料: 本研究选择尼平消化不良指数(nepean dyspepsia index, NDI)和消化不良症状积分量表, 对FD患者针刺治疗前后进行疗效评分.

1.2.6 fMRI扫描方法: fMRI扫描均在四川大学华西医院核磁共振中心进行. 扫描之前, 受试者在封闭房间内休息30 min. 并嘱咐受试者在扫描

时, 闭上双眼, 注意力集中在针刺刺激上. 研究扫描采用3.0T核磁共振扫描仪器(MAGNETOM Trio Tim, Siemens, Germany), 采用头部正交线圈. 扫描定位后, 使用T1加权像扫描做解剖定位依据. 功能扫描采用梯度回波平面成像序列(gradient-recalled echo planar imaging sequence), 参数为: TR = 2000 ms, TE = 30 ms, flip angle = 90度, field of view 240 mm × 240 mm, matrix size = 64 × 64, in-plane resolution = 3.75 mm × 3.75 mm, 30 sagittal slices, 5 mm thickness with no gaps.

统计学处理 人口学资料、临床数据分析使用SPSS16.0统计软件, $P > 0.05$ 为差异具有统计学意义的标准. fMRI数据的处理和分析采用SPM5软件进行. 扫描开始10 s内的数据不纳入分析, 然后进行头动校正. 如果头动平移超过2 mm, 或旋转超过2度, 则不纳入分析. 其次, 对校正后的数据配准和重切体素. 最后, 采用6 mm FWHM的高斯核函数平滑数据. 数据分析基于广义线性模型进行, 检验采用两组t检验, P 值设置为 < 0.001 , 团块大小 ≥ 5 , 将FD患者fMRI数据和正常受试者fMRI数据进行对比(FD减去健康受试者).

2 结果

FD患者与健康人基线一致, 具有可比性($P > 0.05$, 表1).

FD患者针刺治疗后, 病情和情绪改善, NDI评分积分显著减低(38.21 ± 9.925 vs 52.50 ± 13.53 , $P < 0.05$)、消化不良症状积分显著减低

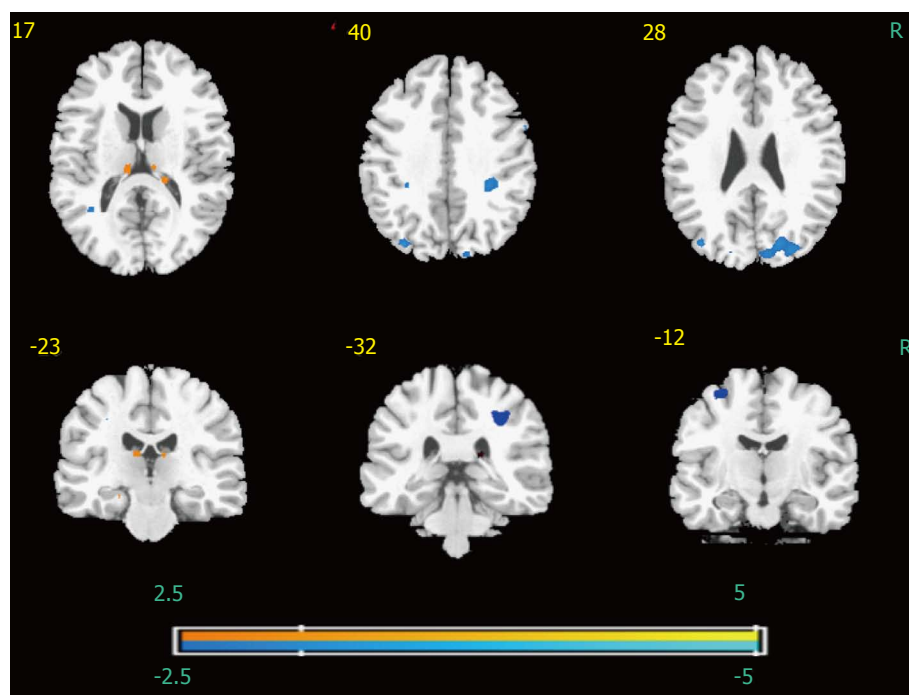


图 2 功能性消化不良患者治疗后对比正常人即时针刺足三里中枢响应差异的脑区(FD患者减去健康受试者). $P < 0.001$, 未校正, 团块大小 ≥ 5 . 蓝色代表FD患者相较于健康人fMRI信号负激活的脑区, 红色代表FD患者相较健康人fMRI信号正激活的脑区. 图中未发现FD病情相关靶向脑区有特异性激活信号. FD: 消化不良.

■创新盘点

运用脑功能成像技术无创、在体、实时、可视化探讨针刺效应的中枢机制成为针刺研究的热点, 而大多数针刺影像学或探讨针刺疗效效应, 或研究健康人即时针刺效应, 或讨论患者治疗前即时针刺效应, 少有研究观察针刺治疗后即时针刺效应. 因此本研究观察FD针刺治疗后对比健康人即时针刺足三里对脑功能的影响, 以期从一个新颖的角度为针刺治疗FD的作用特点提供新的视角.

表 2 功能性消化不良患者针刺治疗前后NDI评分、消化不良症状积分、SAS和SDS的比较 ($n = 24$, mean \pm SD)

	尼平消化不良指数评分	消化不良症状积分	焦虑自评量表	抑郁自评量表
治疗前	52.50 \pm 13.53	1.41 \pm 0.29	41.72 \pm 6.735	43.02 \pm 8.429
治疗后	38.21 \pm 9.925	0.66 \pm 0.56	35.21 \pm 6.131	37.50 \pm 9.178
t值	5.048	6.597	5.126	3.436
P值	0.000	0.000	0.000	0.0002

(0.66 ± 0.56 vs 1.41 ± 0.29 , $P < 0.05$)、SDS积分显著减低(35.21 ± 6.131 vs 41.72 ± 6.735 , $P < 0.05$)、SAS积分显著减低(37.50 ± 9.178 vs 43.02 ± 8.429 , $P < 0.05$)(表2).

将FD患者fMRI数据和正常受试者fMRI数据进行对比(FD患者减去健康受试者), $P < 0.001$ 定义为具有统计学差异, 未校正, 团块大小设定为 ≥ 5 . 结果表明即时针刺足三里, FD患者相较于健康受试者, 右侧缘上回、双侧中央后回、左侧中央前回、双侧枕上回、双侧枕中回、双侧楔叶、左侧额上回、左侧顶上回、双侧颞中回、右侧舌回、右侧梭状回和右侧距状回为fMRI信号负激活, 而左侧丘脑呈现出fMRI信号正激活(表3, 图2).

3 讨论

3.1 针刺治疗可改善FD患者症状和情绪状态 古代虽没有功能性消化不良一词, 但根据FD的临

床特点, FD与古典病名胃痛、胃胀、噎气、痞满等有许多相似之处. 针灸治疗FD历史悠久, 早在《针灸甲乙经》就有记载“胃俞, ……主畏寒, 腹鸣而胀, 翻胃, 呕吐, 不嗜食…….”“腹胀不通, 寒中伤饱, 饮食不化, 中脘主之”. 明·杨继洲《针灸大成》云: “心胸痞满阴陵泉, 针到承山饮食美, 泄泻肚腹诸般疾, 三里、内庭功无比”. 《针灸逢源》中提到“腹中疼痛……刺冲阳、足三里、胃俞”.

现代对针刺治疗FD的临床研究逐渐增多, 最近一项大样本多中心FD的RCT研究结果显示针刺包括足三里在内的腧穴能够改善FD患者的症状和生活质量^[2]. 有研究者发现针刺足三里、梁丘等能显著改善FD患者上腹饱胀、早饱、噎气、恶心、纳差5项主要症状^[3]. 也有研究发现, 针灸可以改善FD患者的焦虑、抑郁等情绪异常状态^[4]. 本试验发现针刺不仅能够改善FD患者病情状况, 同时也能改善情绪状况, 这与以往大多

■应用要点

传统针刺疗法对FD具有确实疗效,然而其具体机制尚不明确。目前有证据表明FD的发病与中枢功能活动异常有联系。本试验观察了针刺治疗后FD患者对比健康受试者对针刺足三里的中枢响应模式差异,发现针刺能够改善FD患者症状和情绪,并且在针刺治疗后,相对健康受试者针刺对FD患者病情相关靶向脑区的调节不具特异性。这为针刺治疗FD的作用特点提供了新的观察角度。

表 3 功能性消化不良患者治疗后与正常人即时针刺足三里中枢响应差异的脑区

脑区	左/右	MNI坐标			t值	Brodmann分区(BA)
		X	Y	Z		
缘上回	右	31	-39	46	-3.025	BA40
中央后回	左	-36	-40	62	-2.712	BA2
中央后回	右	35	-33	46	-2.795	BA40
中央前回	左	-28	13	65	-2.612	BA6
枕上回	右	17	-87	38	-3.053	BA19
枕上回	右	21	-73	20	-2.749	BA18
枕中回	左	-30	-79	40	-3.081	BA19
枕中回	左	-39	-78	30	-2.924	BA39
楔叶	右	15	-88	40	-2.767	BA19
楔叶	右	7	-85	26	-2.666	BA18
额上回	左	-31	-4	68	-2.509	BA6
顶上回	左	-22	-61	60	-2.971	BA7
颞中回	右	48	-73	16	-2.777	BA39
颞中回	右	51	-73	14	-2.795	BA19
颞中回	右	41	-68	12	-2.601	BA39
颞中回	左	-45	-56	8	-2.629	BA39
距状回	右	20	-76	18	-2.684	BA18
舌回	右	25	-60	-2	-2.795	BA19
梭状回	右	20	-46	-10	-3.016	BA30
丘脑	左	-9	23	18	2.658	-

MNI坐标: 由蒙特利尔神经病学研究所制定的人脑三维坐标定位系统, 坐标零点位于大脑中部; X: 左右, Y: 前后, Z: 上下。

数研究结果一致。

3.2 累积针刺治疗后即时针刺对FD病情相关靶向脑区的调节不具特异性 虽然目前对FD发病的确切原因不明确,但近年来的神经影像学研究显示,以脑自稳态系统为主的中枢神经系统功能异常可能是FD的重要病理特征^[5-8]。有研究者使用PET-CT研究对比了健康人与FD患者静息态下脑功能的差异,静息态下FD患者双侧岛叶、ACC、中扣带回(middle cingulate cortex, MCC)、小脑、丘脑、前额叶皮质(prefrontal cortex, PFC)、中央前回、颞上回、豆状核、右旁海马回、屏状核、左楔前叶相比正常人脑代谢异常增高;其中ACC、脑岛、MCC和小脑的代谢情况与FD患者的消化不良症状评分和NDI评分呈正相关^[9]。并且有研究观察了针刺对FD患者静息态脑功能的影响,结果发现相较假针刺治疗,真针刺治疗既能改善FD患者症状,也能特异性地改善异常的FD脑自稳态脑区如ACC、下丘脑、脑岛等^[10]。结合以往影像学研究结果,以脑肠轴、脑自稳态系统为主的脑区,可能是与FD病情相关的靶向脑区,并且针刺治疗对这些

靶向脑区具有良性调节作用。有趣的是,本项研究发现,经过4 wk针刺治疗后FD患者临床症状和情绪状态有所改善,此时即时针刺并不呈现出靶向性调节作用。这可能是FD患者趋愈的客观证据,同时也说明针刺对中枢的调节是一个动态过程,针刺治疗对患者的机体状态具有累积影响作用,当患者机体状态呈现出良性改变时,针刺对某些疾病的靶向脑区的调节可能呈现非特异性。

本项研究发现的一些脑区,如缘上回与失读症、失用症等相关,中央后回主要负责躯体感觉,丘脑是内脏、躯体感觉中枢传递的中继站,中央前回主要负责躯体运动,枕上回、枕中回、楔叶、梭状回、舌回、距状回与视觉相关任务有关,颞中回与面部表情解读等相关,额上回、顶上回与情绪、认知等相关。然而目前缺少证据表明以上脑区与FD病情明确相关。这些脑区的反应模式可能与受试者当时的心理状态、FD患者自我感觉敏感度增高等因素有关。

3.3 机体状态是影响针刺效应的重要因素 针刺是对特定部位进行一定的物理刺激,无需摄入外

源性物质, 机体自身状态对针刺的响应模式决定了针刺的效应. 由于针刺是一门治疗疾病的技术, 单纯以健康人作为研究对象难以解释针刺的作用机制, 因此近年来越来越多针刺影像学以疾病患者作为研究对象. 也有少量研究观察了疾病状态对比健康状态的针刺效应. 例如有临床研究发现以健康人作为对照, 中风^[11]、慢性疼痛^[12]患者对针灸治疗更加敏感. 从中枢机制研究方面, 有研究者利用先进的功能成像技术对中风^[13]、海洛因成瘾^[14]、儿童脑瘫^[15]、腕管综合征^[16]等疾病进行了研究, 其研究结果均显示出了针刺对疾病患者核心脑区的调节作用异于正常人. 本研究从另一个角度, 观察经过针刺治疗后, 即时针刺对不同受试者脑功能的影响. 结果发现经过长期针刺治疗FD患者症状和情绪有所好转, 相较于健康人, 即时针刺虽然能引起广泛脑区响应模式不同, 但是FD病情相关主要脑区响应模式无差别.

总之, 穴位功能是机体状态的外在表现形式之一, 机体状态的变化必定对穴位功能产生影响. 针刺的调节是一个动态过程, 随着患者机体状态的良性改变, 针刺对某些疾病如FD的病情相关脑区的调节作用可能呈现非特异性.

4 参考文献

- 1 Lewith GT, White PJ, Pariente J. Investigating acupuncture using brain imaging techniques: the current state of play. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2: 315-319 [PMID: 16136210]
- 2 Ma TT, Yu SY, Li Y, Liang FR, Tian XP, Zheng H, Yan J, Sun GJ, Chang XR, Zhao L, Wu X, Zeng F. Randomised clinical trial: an assessment of acupuncture on specific meridian or specific acupoint vs. sham acupuncture for treating functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 552-561 [PMID: 22243034 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04979.x]
- 3 骆乐, 寿依群, 陈文君. 针刺治疗功能性消化不良临床研究. *中国针灸* 2002; 22: 89-90
- 4 彭随风, 杨家耀, 时昭红. 电针改善功能性消化不良胃动力、自主神经功能及心理状态. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4105-4109
- 5 Vandenberghe J, Dupont P, Van Oudenhove L, Bormans G, Demyttenaere K, Fischler B, Geeraerts B, Janssens J, Tack J. Regional cerebral blood flow during gastric balloon distention in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2007; 132: 1684-1693 [PMID: 17484866]
- 6 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Dupont P, Geeraerts B, Vos R, Dirix S, Van Laere K, Bormans G, Vandenberghe D, Demyttenaere K, Fischler B, Tack J. Regional brain activity in functional dyspepsia: a H(2)(15)O-PET study on the role of gastric sensitivity and abuse history. *Gastroenterology* 2010; 139: 36-47 [PMID: 20406641 DOI: 10.1053/J.gastro.2010.04.015]
- 7 Van Oudenhove L, Vandenberghe J, Dupont P, Geeraerts B, Vos R, Dirix S, Bormans G, Vandenberghe D, Van Laere K, Demyttenaere K, Fischler B, Tack J. Abnormal regional brain activity during rest and (anticipated) gastric distension in functional dyspepsia and the role of anxiety: a H(2)(15)O-PET study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 913-924 [PMID: 20160711 DOI: 10.1038/ajg.2010.39]
- 8 Mayer EA. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 453-466 [PMID: 21750565 DOI: 10.1038/nrn3071]
- 9 Zeng F, Qin W, Liang F, Liu J, Tang Y, Liu X, Yuan K, Yu S, Song W, Liu M, Lan L, Gao X, Liu Y, Tian J. Abnormal resting brain activity in patients with functional dyspepsia is related to symptom severity. *Gastroenterology* 2011; 141: 499-506 [PMID: 21684280 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.003]
- 10 Zeng F, Qin W, Ma T, Sun J, Tang Y, Yuan K, Li Y, Liu J, Liu X, Song W, Lan L, Liu M, Yu S, Gao X, Tian J, Liang F. Influence of acupuncture treatment on cerebral activity in functional dyspepsia patients and its relationship with efficacy. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1236-1247 [PMID: 22641307 DOI: 10.1038/ajg.2012.53]
- 11 Li G, Jack CR, Yang ES. An fMRI study of somatosensory-implicated acupuncture points in stable somatosensory stroke patients. *J Magn Reson Imaging* 2006; 24: 1018-1024 [PMID: 16969787]
- 12 White P, Lewith G, Prescott P. Should we recruit patients or healthy volunteers for acupuncture studies of chronic pain? *Clin J Pain* 2007; 23: 714-719 [PMID: 17885351]
- 13 王菁, 漆剑频, 夏业玲, 黄晓琳, 李文迅, 王承缘. 人脑运动皮质对针刺足三里和阳陵泉反应的功能性磁共振成像研究. *中华物理医学与康复杂志* 2004; 26: 472-475
- 14 Liu S, Zhou W, Ruan X, Li R, Lee T, Weng X, Hu J, Yang G. Activation of the hypothalamus characterizes the response to acupuncture stimulation in heroin addicts. *Neurosci Lett* 2007; 421: 203-208 [PMID: 17574746]
- 15 Wu Y, Jin Z, Li K, Lu ZL, Wong V, Han TL, Zheng H, Caspi O, Liu G, Zeng YW, Zou LP. Effect of acupuncture on the brain in children with spastic cerebral palsy using functional neuroimaging (fMRI). *J Child Neurol* 2008; 23: 1267-1274 [PMID: 18984835 DOI: 10.1177/0883073808318049]
- 16 Nyvad B, Fejerskov O. Root surface caries: clinical, histopathological and microbiological features and clinical implications. *Int Dent J* 1982; 32: 311-326 [PMID: 6761270]

■同行评价

本文选题具有临床实际意义, 临床研究符合伦理学规范, 数据统计分析方法可靠, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



炎症性肠病患者病理特点430例

黄华丽, 缪应雷, 唐召力, 王光耀

■背景资料

由于人们生活方式西化, 尤其是饮食结构改变, 未来炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)的发病率将可能继续上升。尽管随着人们对IBD的认识提高, 检查手段不断进步, 手术方式不断改进, 新药物的治疗方法和基因治疗方法不断涌现, 患者生命质量都有很大的改善, 但IBD诊断目前尚缺乏特异性指标, 昆明市住院IBD患者病理学检查镜下描述的例数很少, 诊断符合率低, 主要是对IBD病理特征认识不足, 故有必要分析IBD患者病理特点, 了解溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)各自的病理特征, 促进病理诊断水平的提高。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

黄华丽, 唐召力, 王光耀, 南方医大附属柳州市柳铁中心医院 广西壮族自治区柳州市 545007

缪应雷, 昆明医学院第一附属医院 云南省昆明市 650032

黄华丽, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 此课题由缪应雷与黄华丽设计; 黄华丽与王光耀在缪应雷指导下收集整理患者资料, 并进行数据统计分析; 缪应雷与黄华丽撰写论文; 唐召力负责审核资料及论文。

通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院消化内科。myldu@sina.com

收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-05-19

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Pathological characteristics of IBD: An analysis of 430 cases

Hua-Li Huang, Ying-Lei Miao, Zhao-Li Tang, Guang-Yao Wang

Hua-Li Huang, Zhao-Li Tang, Guang-Yao Wang, Department of Gastroenterology, Liuzhou Liutie Central Hospital, Liuzhou 545007, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China

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

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2013-04-23 Revised: 2013-05-19

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To summarize the pathological characteristics of inflammatory bowel disease (IBD) in hospitalized patients in Kunming by retrospectively analyzing data over the past 10 years.

METHODS: The detailed data for 430 patients with IBD, including 379 with ulcerative colitis (UC) and 51 with Crohn's disease (CD), were obtained from seven large general hospital of Kunming from January 1998 to March 2007. IBD was diagnosed based on the diagnostic and treatment criteria established in the digestion disease institute branch conference of China in 2007. The pathological characteristics of IBD were then analyzed.

RESULTS: The pathology diagnosis coincidence rate in UC and CD was 24.4% and 27.5%,

respectively. Approximately 56.2% of 379 UC patients underwent pathological examination, of which 180 cases had described microscopic features. The microscopic manifestations included erosion or ulcer in 25% of cases, cryptitis and crypt abscess in 29%, cryptae twisting and branching in 1.8%, cryptae atrophy in 1.7%, fluffiness surfaces in 0.56%, goblet cells reduction in 11.1%, fundus phlogocytosis in 5.6%, gland hyperplasia in 8.9%, and atypical hyperplasia in 3.9%. Approximately 78.4% of 51 patients with CD underwent pathological examination, of which 30 cases had described microscopic features. The microscopic manifestations included active chronic inflammation in 100% of cases, non-caseating granuloma in 23.3%, and fissuring ulcer in 23.3%.

CONCLUSION: The number of cases undergoing pathological examination was not very high, and the coincidence rate was low. Pathological characteristics of UC were mainly erosion or ulcer, cryptitis and crypt abscess, while those of CD were mainly non-caseating granuloma and fissuring ulcer, both of which were in active chronic inflammation period.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Crohn's disease; Pathology

Huang HL, Miao YL, Tang ZL, Wang GY. Pathological characteristics of IBD: An analysis of 430 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1888-1892 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1888.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1888>

摘要

目的: 回顾性调查昆明市近10年来炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)住院患者的病理表现。

方法: 选取昆明市1998-01/2007-03 7家大型综合医院379例住院的IBD患者作为调查对象, 诊断均符合2007年中华医学会消化病学分会的IBD诊治标准, 分析IBD患者病理特点。

结果: 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)组织病理检查诊断符合率为24.4%(52/213例), 而克罗恩病(Crohn's disease, CD)组织病理检查诊断符合率为27.5%(11例/40例). UC组中有56.2%(213例/379例)患者行病理检查, 其中有180例描述显微镜下特征. 镜下主要表现为糜烂、溃疡25%(45/180例)、隐窝炎及隐窝脓肿29%(52例/180例)、隐窝扭曲与分支1.8%(3例/180例)、隐窝萎缩1.7%(3/180例)、绒毛状表面0.56%(1/180例)、杯状细胞减少11.1%(20/180例)、基底浆细胞增多5.6%(100/180例)、腺体增生8.9%(16/180例)、不典型增生3.9%(7/180例). CD组中有78.4%(40例/51例)的患者行病理检查, 其中有30例描述显微镜下特征. CD组的主要表现为急慢性炎症占100%(40例/40例)、非干酪样肉芽肿23.3%(7例/30例)、裂隙样溃疡23.3%(7例/30例).

结论: 昆明市IBD的病理检查例数少, IBD诊断符合率低, 而UC病理特点以糜烂或溃疡及隐窝炎与隐窝脓肿为主, CD病理特点以非干酪样肉芽肿与裂隙样溃疡为主, 其均为急慢性炎症期.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 病理

核心提示: 昆明市炎症性肠病(inflammatory bowel disease)的病理检查例数少, 诊断符合率低, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)病理特点以糜烂或溃疡及隐窝炎及隐窝脓肿为主, 克罗恩病(Crohn's disease)病理特点以非干酪样肉芽肿及裂隙样溃疡为主, 均为急慢性炎症期.

黄华丽, 缪应雷, 唐召力, 王光耀. 炎症性肠病患者病理特点430例. 世界华人消化杂志. 2013; 21(19): 1888-1892 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1888.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1888>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)病因尚不明确, 目前认为是一种与环境、基因、和/或免疫因素有关的慢性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[1,2].

UC是一种反复复发、非透壁性、结肠炎性疾病. 病变的位置主要为直肠炎、左半结肠炎(乙状结肠及有或无降结肠)、全结肠炎. CD

是一种反复复发、透壁性、胃肠道黏膜的炎症性疾病, 从口腔到肛门全胃肠道都可以受影响^[3]. CD胃肠道病变呈跳跃性或节段性, 并发症有狭窄、脓肿、瘘管. 病变范围和疾病行为随着时间会发生变化^[4]. 该疾病病变部位以回结肠型最多见, 上消化道极少见. CD患者的临床类型以非狭窄和非透壁型(炎症型)最常见, 穿孔型较少见.

以往UC和CD发病率高的北欧和北美洲地区如今发病率持续稳定升高, 而南欧、亚洲和许多发展中国家的发病率都不断升高^[5]. 近10年来, 我国IBD病例呈上升趋势, 尤其在经济发展较快的城市和地区^[6]. 国外对IBD的病理特征研究较多, 国内对IBD的病理认识不足, 研究较少, 故所以我们选取昆明市7家大型综合医院10年来收住的430例IBD患者(其中UC共有379例, CD共有51例), 系统地分析其病理组织学检查结果, 总结UC和CD的病理学特征, 以提高我们对IBD的诊治水平.

1 材料和方法

1.1 材料 选取云南省昆明市7家大型综合医院, 调查1998-01/2007-03住院诊断为IBD的患者, 采用2007年中华医学会消化病学分会制定的UC和CD诊断标准^[2], 经过二名具有高级职称的消化内科专家和二名临床病理学专家重新复习相关病例资料和病理资料后, 共筛选出430例IBD患者, 其中UC 379例, CD 51例.

1.2 方法 收集病例的表格使用四川大学华西医院设计的UC或CD临床资料简表, 记录内容包括: 一般临床资料(性别、年龄、职业、居住地、肠道疾病等既往史、过敏史、研究史、体检、有无家族史等)、实验室检查(血常规、白蛋白、血沉、C反应蛋白等)、临床表现(大便次数、里急后重、腹痛、黏液脓血便、发热、腹部包块、体质量减轻、肠梗阻、肠外表现、并发症等)、病情、病期、病程、结肠镜所发现的病变部位、病理结果及治疗状况等.

1.2.1 病理诊断标准: 黏膜组织学检查: 内镜活检最好包括炎症和非炎症区域, 以确定炎症是否节段性分布每个有病变的部位至少取块组织, 注意病变的局限或片状分布. 病变部位较典型的改变有: (1)非干酪性肉芽肿; (2)阿弗他溃疡; (3)裂隙状溃疡; (4)固有膜慢性炎性细胞浸润、腺窝底部和黏膜下层淋巴细胞聚集; (5)黏膜下层增宽; (6)淋巴管扩张; (7)神经节炎; (8)隐窝

■ 研究前沿

IBD主要是排除诊断, 排除其他疾病, 结合临床、内镜及活检结果, 作出最后诊断, 但是病理诊断水平普遍偏低, 故急需回顾分析IBD的病理资料, 以提高病理诊断水平.

■创新盘点

昆明市IBD住院患者的病理情况未见报道过,故为了提高对IBD病理的认识及诊断水平,回顾性分析IBD患者的病理特征。

结构大多正常,杯状细胞不减少等。手术切除标本病理检查:可见肠管局限性病变、节段性损害、鹅卵石样外观、肠腔狭窄、肠壁僵硬等特征。除上述病变外,病变肠段镜下更可见穿壁性炎症、肠壁水肿、纤维化以及系膜脂肪包绕等改变,局部淋巴结亦可有肉芽肿形成。在排除肠结核、阿米巴痢疾、耶尔森菌感染等改变,局部淋巴结亦可有肉芽肿形成。在排除慢性肠道感染、肠道淋巴瘤、憩室炎、缺血性肠炎、白塞病以及等基础上,可按下列标准诊断:(1)具备上述临床表现者可临床疑诊,安排进一步检查;(2)同时具备上述条件1和2或3特征者,临床可拟诊为本病;(3)如再加上4或5项病理检查,发现非干酪性肉芽肿和其他1项典型表现或无肉芽肿而具备上述3项典型组织学改变者,可以确诊,即强调临床拟诊,病理;(4)初发病例、临床表现和影像或内镜检查以及活检难以确诊时,应随访观察3-6 mo。如与肠结核混淆不清者应按肠结核作诊断性治疗4-8 wk,以观后效^[7]。

统计学处理 采用统计描述进行分析,数据处理用SPSS13.0统计软件包。计数资料使用 χ^2 检验,计量资料使用 t 检验。

2 结果

2.1 一般临床资料 UC组病例中男女性别比率为1.27:1,该组30-39岁和50-59岁年龄段的患者最多。CD组病例中男女比率为1.94:1,该组20-29岁年龄段的患者最多。UC组中脑力劳动者占52.8%,体力劳动者37.2%,脑体混合10%;居住城镇者占76.3%,农村23.7%。而CD组中脑力劳动者占49%,体力劳动者45%,脑体混合9.4%;居住城镇者占70.6%,农村29.4%。UC组的病例100%为活动期,其中轻度占38.3%,中度42.2%,重度19.5%;临床类型为:初发型占38.8%,慢性复发型46.7%,慢性迁延型13.2%,急性爆发型1.3%;UC组病变范围如下:直肠型者占13.2%,直肠和乙状结肠型26.9%,左半结肠型34.9%,右半结肠型3.2%,全结肠型21.7%。CD组中活动期的病例占92.2%,缓解期7.8%;其中轻度15.7%,中度43.1%,重度41.2%;临床类型为:狭窄型25.5%,穿孔型11.8%,非狭窄非穿孔型(炎症型)62.7%;病变范围为:回结肠型(包括回盲部)者占48.6%,小肠型21.6%,结肠型29.7%^[8]。

2.2 UC组和CD组的病理诊断符合情况 根据2007年中华医学会消化病学分会IBD诊治标准^[7]分

析,UC组病理检查诊断符合率为24.4%(52/213例)。而CD组病理检查诊断符合率为27.5%(11例/40例)。

2.2.1 UC组的病理组织检查: UC组中有56.2%(213例/379例)患者行病理检查,其中有180例描述显微镜下特征。镜下主要表现为糜烂、溃疡25%(45/180),隐窝炎及隐窝脓肿29%(52/180)、隐窝扭曲与分支1.8%(3/180)、隐窝萎缩1.7%(3/180)、绒毛状表面0.56%(1/180)、杯状细胞减少11.1%(20/180)、基底浆细胞增多5.6%(100/180)、腺体增生8.9%(16/180)、不典型增生3.9%(7/180)。

2.2.2 CD组的病理组织检查: CD组中有78.4%(40例/51例)的患者行病理检查,其中有30例描述显微镜下特征。CD组的主要表现为慢性炎症占100%(40/40)、非干酪样肉芽肿23.3%(7/30)、裂隙样溃疡23.3%(7/30)。

2.2.3 误诊情况: 误诊的UC例患者中,急性自限性结肠炎1.26%(5/397),感染性肠炎1.26%(5/397)。误诊的CD患者中肠梗阻7例13.7%(7/51),肠结核9.8%(5/51)。

3 讨论

从云南省昆明市7家大型综合医院近10年来430例住院IBD患者的临床资料可以看出,IBD的趋势主要为UC患者的病例数逐年升高的^[8],与文献报道国内^[6]、国外^[5]一致,而CD例数一直较稳定,升高不明显,与国外很多国家一致^[5]。故本研究回顾性调查分析了昆明约10年住院IBD患者的组织病理学检查情况,可看出昆明市IBD住院病例病理有以下特征。

本研究中UC组患者的主要病理特征是糜烂、溃疡、隐窝炎和隐窝脓肿、杯状细胞减少、腺体增生,其他还有隐窝扭曲与分支、隐窝萎缩、绒毛状表面等改变。UC组的病理学诊断符合率为24.5%,国外达到70%以上,说明昆明市的病理学诊断水平还是相对低下。UC病理表现特征是慢性特发性结肠炎^[9]。“特发性”暗示缺乏独特的病理特征,这些特征将显示除UC外的特殊病因。结肠黏膜内层结构破坏是UC的有力证据^[10,11]。正常黏膜中直的和管状的隐窝延伸到黏膜肌层,与其他仅少量累及黏膜固有层的隐窝平行,而UC很明显地有隐窝萎缩,这个隐窝没有延伸到黏膜肌层。慢性的其他特征包括分支和不规则形状的隐窝。尤其可在UC中见到黏

膜固有层的淋巴细胞浆细胞浸润. 黏膜深层浆细胞积聚(基底浆细胞增多症)有助于鉴别UC和急性结肠炎, 如感染^[12,13]. 这种黏膜炎症浸润可以见到嗜酸性粒细胞数量的变化. 结肠嗜酸性粒细胞增多是最常见的, 是由IBD引起的, 而不是过敏或其他类型的结肠炎. 可出现其他细胞(如肥大细胞), 但是他们不容易区分常规苏木素和伊红染色部分. 盲肠外出现潘氏细胞是另外一个慢性征象. 通过顶端细胞浆中出现红色颗粒, 伊红染色可识别潘氏细胞. 活动性指的是中性粒细胞浸润到隐窝上皮细胞, UC的这种变化可能非常明显. 轻度活动性的特征是隐窝上皮细胞浸润少量中性粒细胞. 中度活动性是隐窝腔中积聚中性粒细胞, 足以形成隐窝脓肿. 重度活动性常常是指黏膜完全破坏, 并形成溃疡和急性炎症. 尤其是UC的炎症变化限于黏膜层, 首先累及直肠黏膜表面, 呈弥漫性分布^[10].

本研究中CD组患者的主要病理特征为急慢性炎症, 非干酪样肉芽肿23.3%、裂隙样溃疡23.3%. 西方研究报道肉芽肿的发现率约15%-85%, 变异较大. 克罗恩性结肠炎与UC慢性特发性炎症过程相似, 但是肉眼和显微镜下特征常常不同于UC^[10]. 节段性和深层炎症是CD典型的特征. 穿壁性炎症时浆膜表面可能有异常, 狭窄、瘘管、脓肿也是CD的特征^[10]. 黏膜表面显示正常组织与炎症组织混合的交替区域. 这些未累及的黏膜部分称作跳跃性区域. 小的、局部(口疮)溃疡是CD的最早的异常. 疾病病变范围会扩大, 可形成纵向和横向溃疡, 这些就是经典的鹅卵石样表现. 与UC不同的是肉眼和显微镜下CD炎症更具局限性. 单倍显微镜视野可以显示中性粒细胞浸润单个隐窝, 但是邻近隐窝完全正常^[14]. 常可以用肠镜下组织活检材料观察到这种局部急性结肠炎. CD的其他特征包括非引起坏死的类肉瘤样肉芽肿. 尤其透壁淋巴积聚在溃疡不深的区域是缺少肉芽肿时鉴别CD和UC最关键的特征^[2,10].

IBD主要是在排除其他疾病基础上, 依据临床、内镜及活检综合判断而作最后诊断^[1,15], 在我们研究中昆明市住院IBD患者病理学检查镜下描述的例数很少, 诊断符合率低, 主要是对IBD病理特征认识不足, 故这些研究结果有助于人们及时了解UC和CD各自的病理特征, 以促进病理诊断水平的提高, 从而早期诊断和鉴别诊断, 接受正规治疗, 诱导临床缓解. 同时也为IBD

的进一步研究积累了宝贵的一手资料.

致谢: 感谢昆明医学院第一附属医院高华斌老师、昆明医学院附二医院方克伟老师、云南省人民医院病理科迟昆萍老师、云南省红会医院消化内科王敏老师、解放军第四十三医院消化内科范宗江主任、昆明市第一人民医院消化内科赖苇主任、昆明市延安医院消化内科张继美老师在病例收集方面给予我莫大的帮助.

4 参考文献

- Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* 2002; 359: 62-69 [PMID: 11809204 DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07284-7]
- 郑家驹, 高志昕. 炎症性肠病临床、内镜与病理学. 北京: 科学出版社, 2004: 39-44
- Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007; 369: 1641-1657 [PMID: 17499606 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60751-X]
- Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, Caprilli R, Colombel JF, Gasche C, Geboes K, Jewell DP, Karban A, Loftus Jr EV, Peña AS, Riddell RH, Sachar DB, Schreiber S, Steinhart AH, Targan SR, Vermeire S, Warren BF. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005; 19 Suppl A: 5-36 [PMID: 16151544]
- Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004; 126: 1504-1517 [PMID: 15168363 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.063]
- 王玉芳, 欧阳钦. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾性分析. *中华消化杂志* 2006; 26: 368-372
- 中华医学会消化病分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 27: 488-495
- 廖应雷, 黄华丽, 王光耀, 杜艳, 段丽平. 昆明市炎症性肠病多中心临床资料分析. *中华消化杂志* 2009; 29: 90-92
- Petras R. Non-neoplastic intestinal diseases. PA: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004: 1475-1541
- Farmer M, Petras RE, Hunt LE, Janosky JE, Galandiuk S. The importance of diagnostic accuracy in colonic inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3184-3188 [PMID: 11095339 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03199.x]
- Carpenter HA, Talley NJ. The importance of clinicopathological correlation in the diagnosis of inflammatory conditions of the colon: histological patterns with clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 878-896 [PMID: 10763932 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01924.x]
- Nostrant TT, Kumar NB, Appelman HD. Histopathology differentiates acute self-limited colitis from ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1987; 92: 318-328 [PMID: 3792768]
- Surawicz CM, Belic L. Rectal biopsy helps to distinguish acute selflimited colitis from idiopathic inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1984; 86: 104-113 [PMID: 6689653]
- Xin W, Brown PL, Greenson JK. The clinical signifi-

■应用要点

了解了昆明IBD患者的病理特点, 加深对IBD病理特征的相关知识, 从而提高病理诊断水平.

■同行评价

本文选题可靠, 研究资料有一定的价值.

- cance of focal active colitis in pediatric patients. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1134-1138 [PMID: 12883246 DOI: 10.1097/00000478-200308000-00011]
- 15 Morpurgo E, Petras R, Kimberling J, Ziegler C, Ga-

landiuk S. Characterization and clinical behavior of Crohn's disease initially presenting predominantly as colitis. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 918-924 [PMID: 12847366]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

肾移植术后直肠及肛门恶性肿瘤的诊治

梁玉梅, 管静芝, 李 宁

梁玉梅, 李宁, 中国人民解放军第309医院病理科 北京市 100091

管静芝, 中国人民解放军第309医院肿瘤科 北京市 100091

梁玉梅, 主治医师, 主要从事消化病理和移植病理方面的研究。

作者贡献分布: 梁玉梅负责收集病理资料与信息, 并对相关文献进行了整理与综述, 撰写本文; 管静芝提供了相关的临床与随访信息; 李宁负责对病理诊断的复核并参与了文章的撰写。

通讯作者: 梁玉梅, 主治医师, 100091, 北京市海淀区黑山扈路甲17号, 中国人民解放军第309医院病理科。

yumei.liang@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-05-18

接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-07-08

Diagnosis and treatment of rectal or anal carcinoma after renal transplantation

Yu-Mei Liang, Jing-Zhi Guan, Ning Li

Yu-Mei Liang, Jing-Zhi Guan, Ning Li, Pathology Department, the 309th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100091, China

Jing-Zhi Guan, Department of Oncology, the 309th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100091, China

Correspondence to: Yu-Mei Liang, Attending Physician, Pathology Department, the 309th Hospital of Chinese People's Liberation Army, 17 Heishan Hulu Jia, Haidian District, Beijing 100091, China. yumei.liang@yahoo.com.cn

Received: 2013-01-07 Revised: 2013-05-18

Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-07-08

Abstract

AIM: To report a case of rectal adenocarcinoma and a case of anal squamous cell carcinoma in situ after renal transplantation, and review the relevant literature.

METHODS: A case of squamous cell carcinoma in situ arising in a patient 2 years after renal transplantation and a case of rectal adenocarcinoma arising in a patient 14 years after renal transplantation were collected. The resected specimens were fixed in buffered formalin, paraffin-embedded, 4 μ m-sectioned, and reviewed by two pathologists. Human papillary virus (HPV) and Epstein-Barr virus (EBV) were detected both in the adenocarcinoma and squamous carcinoma. *K-ras* and *BRAF* genes were sequenced in rectal adenocarcinoma to identify mutations.

RESULTS: The patient suffering from squamous cell carcinoma in situ was a 54-year-old female, with a history of mixed hemorrhoid for 30 years without obvious bleeding. The regimen of mycophenolate mofetil (MMF), prednisone (Pred) and tacrolimus was used to control rejection reactions. Six months after transplantation, the patients complained of intermittent painless hemorrhage. The diagnosis of mixed hemorrhoid was made by colonoscopy and conservative treatment was performed consequently for the next year. Since the hemorrhage became worse in the last month, hemorrhoid resection was performed. Squamous carcinoma in situ was diagnosed. There was no HPV or EBV infection. No adverse events occurred in the next 36-mo follow-up period. The patient suffering from rectal adenocarcinoma was a 39-year old male who complained of bloody stools for one year and aggravation for 1 mo. Colonoscopy revealed a space-occupying lesion localized in the rectum. He was diagnosed with renal failure 15 years ago and accepted renal allograft 14 years ago. MMF and Pred were used as the immunosuppressant for 12 years and stopped as the allograft lost its function 2 years ago. Anterior resection was performed and pathologic examination revealed poorly differentiated adenocarcinoma mixed with mucinous adenocarcinoma accompanied with numerous cancerous emboli and lymph node metastasis (pT3N2aM0). After 18 mo of follow-up, he suffered from abdominal relapse and hepatic metastasis. The lymphocytes infiltrating into the carcinoma were negative for EBER. Wild-type *K-ras* and *BRAF* were detected.

CONCLUSION: Bloody stools can be the first sign of anal or rectal carcinoma. Immunosuppressive drugs may act as a pivotal enhancer during the pathogenesis of carcinoma. The patients sensitive to immunosuppression therapy and/or undergoing long-term immunosuppression therapy should be cautious of carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Carcinoma; Renal transplantation; Rectum; Anus

■背景资料

随着免疫抑制剂的广泛应用肾移植供体存活时间显著延长, 移植后患者恶性肿瘤的发生率明显上升, 成为移植术后最重要的并发症之一。2000以后, 英文文献中基于长期随访的对于肾移植后恶性肿瘤发病率的报道越来越多, 而国内此类报道并不多见, 消化系肿瘤的发生更少见报道, 缺乏文献的系统性综述。本文对我院收治的肛门及直肠恶性肿瘤进行详细报道, 对相关文献进行系统性综述, 以提示临床医师警惕肾移植后消化系统恶性肿瘤的发生, 实现对患者早诊早治。

■同行评议者

朴龙镇, 副教授, 延边大学附属医院肿瘤科

■ 研发前沿

移植术后患者肿瘤发生的具体原因尚不明确, 目前认为还是多因素相互作用的结果。长期的免疫抑制状态降低了机体的免疫防御功能一直都被认为是移植受者肿瘤发生率增高的原因之一。

Liang YM, Guan JZ, Li N. Diagnosis and treatment of rectal or anal carcinoma after renal transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(19): 1893-1898 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1893.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1893>

摘要

目的: 报道肾移植术后直肠及肛门恶性肿瘤患者资料并复习相关文献, 为肾移植术后直肠及肛门肿瘤的早期发现与治疗总结经验。

方法: 收集肾移植术后2年肛门鳞状细胞原位癌1例及肾移植术后14年直肠低分化腺癌及黏液腺癌1例。手术切除标本均中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μ m切片并HE染色, 行常规病理检查。应用EBER原位杂交检测EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染; 导流原位杂交检测人类乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染。在直肠腺癌中应用DNA直接测序检测K-ras、BRAF有无突变。

结果: 病例1, 患者女性, 54岁, 肾移植术后应用吗替麦考酚酯胶囊、他克莫司胶囊及强的松进行免疫抑制治疗, 既往患混合痔30余年。肾移植术后6 mo出现间断性无痛性便后出血, 保守治疗1年余, 逐渐加重1 mo, 行手术治疗。病理检查示鳞状细胞原位癌。HPV、EBER检查均阴性。随访36 mo未见复发及转移。病例2, 患者男性39岁, 肾移植术后应用吗替麦考酚酯胶囊及强的松进行免疫抑制治疗12年, 因移植肾功能丧失停用免疫抑制剂1年后出现便血, 消化内镜检查见直肠占位, 行手术治疗。病理检查示直肠低分化腺癌, 部分为黏液腺癌, 脉管内见大量癌栓, 癌组织浸润肠壁全层, 肠周淋巴结见癌转移。测序发现K-ras与BRAF基因均为野生型。EBER原位杂交阴性, 术后18 mo见腹腔内复发及肝脏转移。

结论: 便血可以是肾移植后直肠与肛周恶性肿瘤患者的首发症状, 免疫抑制剂的应用可能是肿瘤发生重要的促进因素; 对免疫抑制治疗敏感或长期应用免疫抑制剂的患者特别是存在可能促进肿瘤发生的基础疾病的患者尤其应警惕肿瘤的发生。及早建立对肾移植术后患者直肠及肛周肿瘤的筛查制度及方法有利于肿瘤的早诊早治。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 恶性肿瘤; 肾移植; 直肠; 肛门

核心提示: 本文报道了肾移植术后肛门及直肠恶

性肿瘤2例, 并复习相关文献。认为肾移植术后患者肿瘤发病年龄小, 预后差; 肿瘤相关病毒感染的监测可能具有肿瘤筛查作用; 癌前病变表现为憩室或增生性息肉而不同于一般人群; 选用西罗莫司为代表的mTOR抑制剂在免疫抑制的同时可能对控制肿瘤也具有一定的作用。

梁玉梅, 管静芝, 李宁. 肾移植术后直肠及肛门恶性肿瘤的诊治. *世界华人消化杂志* 2013; 21(19): 1893-1898 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1893.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i19.1893>

0 引言

目前, 肾移植是治疗终末期肾病的根本性手段。随着免疫抑制剂的发展和对急性排斥反应控制手段的成熟, 越来越多的肾移植受者可以保有移植肾的功能, 临床医生也越来越关注影响肾移植患者长期存活的因素。长期的随访发现心血管病和恶性肿瘤是影响移植患者生存最重要的两个因素^[1,2], 中年人或者更年轻的移植术后患者发生恶性肿瘤的机率更高^[3]。肾移植术后, 恶性肿瘤在全身近25个部位的发生率均较正常人升高, 在英文文献中发病率上升最高的是皮肤的恶性非黑色素肿瘤, 高达40倍左右, 其次是肛门周围癌, 升高达10倍左右^[4]。国内文献中较少关于移植术后恶性肿瘤的大宗病例报道, 现有报道中最多的是肾透明细胞癌和尿路上皮癌, 对于直肠及肛门癌少见分析与报道^[5,6]。我们收集了我院收治的肾移植术后肛门鳞状上皮原位癌1例及直肠腺癌1例进行报道并对相关文献进行复习。

1 材料和方法

1.1 材料 病例1, 患者女性, 54岁, 肾移植术后2年, 内痔30年, 便血加重1 mo。患者确诊慢性肾功能不全(尿毒症期)、肾性贫血、肾性高血压, 行常规血液透析治疗1年余, 2年前行同种异体肾移植术, 受体血型为B型, 术前人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)配型良好, 淋巴毒细胞试验2%, 巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)DNA及丙型肝炎RNA阴性。供体男性, 血型B型。术后口服吗替麦考酚酯胶囊500 mg 2次/d, 他克莫司胶囊3 mg 2次/d, 强的松10 mg/早。患者患混合痔30年, 无明显出血。术后6 mo出现便血症状, 便血为间断性无痛性便后出血, 无疼痛、发热等症状, 体质量无明显减轻。消化内科行电子结肠镜检查确诊为内痔, 行保守治疗。术后11 mo出现肺

部支气管扩张伴曲霉菌感染, 抗真菌治疗后好转, 免疫抑制剂改为FK-506 1.5 mg 2次/d, 吗替麦考酚酯胶囊(mycophenolate mofetil, MMF)500 mg 2次/d, 泼尼松(prednisone, Pred) 5 mg 1次/d. 近1 mo, 患者便血逐渐加重, 遂行手术治疗. 病例2: 患者男性, 39岁, 主因便血1年余, 电子结肠镜检查发现结肠占位1 mo入院. 患者于15年前确诊为慢性肾功能不全(尿毒症期)行血液透析治疗; 14年前于外院行肾移植手术, 术后给予MMF及Pred免疫抑制治疗, 未曾改用其他免疫抑制方案. 5年前复查发现移植肾功能丧失, 再次行血液透析治疗, 2年前停用免疫抑制剂. 1年前无明显诱因出现大便带血, 为鲜红色, 当地医院诊断为“痔”, 未予重视. 近1 mo来便血加重, 于当地行电子结肠镜检查发现为直肠占位, 活检提示为腺癌. 遂来我院行手术治疗.

1.2 方法 所有手术切除标本均中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 4 μ m切片, 2位病理医生独立阅片、诊断. 应用EBER原位杂交检测标本中EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染. 导流原位杂交法检测标本中人类乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染情况. 所有实验步骤严格按照试剂盒说明书进行. 在直肠腺癌标本中应用DNA直接测序法检测*K-ras*及*BRAF*基因是否存在突变.

2 结果

2.1 病理结果及随访信息 例1: 送检肛门处灰褐色不整形皮肤组织1块, 大小为2 cm \times 2 cm \times 1 cm, 表面皮肤光滑, 未见著变. 同时送检肛管处灰白间灰褐色软组织1块, 大小为5.5 cm \times 1.3 cm \times 0.8 cm. 镜下见肛门鳞状上皮黏膜重度不典型增生, 局部呈原位癌改变, 黏膜下见大量扩张迂曲的血管伴充血, 符合外痔继发鳞状细胞原位癌改变. 肛管见混合痔, 局部鳞状上皮黏膜中-重度不典型增生, 切缘未见不典型增生性病变. 患者术后恢复良好, 随访36 mo未见肿瘤复发及转移. 例2: 送检为切除的乙状结肠及直肠, 肠管长为21 cm, 一侧切缘周径为3.5 cm, 另一侧切缘周径为4 cm, 距一侧切缘10 cm, 另一侧切缘7.5 cm处见溃疡型肿物, 大小为3.5 cm \times 2.6 cm \times 2.2 cm, 环绕肠壁3/4生长, 切面灰白色, 实性, 质中等, 局部见黏液; 癌组织浸润肠壁全层并于肠系膜内癌结节形成, 其余肠黏膜灰白色, 光滑, 皱襞存在. 于肿物周围脂肪组织内检出淋巴结7枚.

镜下见肿瘤部分为黏液腺癌, 部分为低分化腺癌, 癌组织浸润肠壁全层至肠系膜脂肪组织并多量癌结节形成, 肿瘤未突破脏层腹膜; 脉管内见多量癌栓, 神经周围见癌浸润, 肠系膜淋巴结见癌转移(6/7). 肿瘤的病理分期为pT3N2aM0. 患者术后恢复良好, 行FOLFOX联合Cetuximab方案化疗6个疗程, 随访18 mo见肿瘤腹腔内复发并肝脏转移.

2.2 分子病理 肛门鳞状细胞原位癌中导流原位杂交未查及HPV感染. EBER原位杂交阴性. 直肠腺癌中EBER原位杂交阴性. DNA直接测序法检测*K-ras*及*BRAF*基因均为野生型.

3 讨论

随着免疫抑制剂的成功应用, 移植供体的存活率明显提高, 存活时间显著延长; 但移植术后患者恶性肿瘤的发生率明显上升, 成为移植术后最重要的并发症之一. 文献报道与一般人群相比, 移植术后患者恶性肿瘤的发生风险升高2.50-3.46倍^[7]. 不同器官发生恶性肿瘤的机率亦不同, 在英文文献的报道中以发生在皮肤的恶性非黑色素肿瘤最为常见, 发生率升高40倍以上; 其次是肛门的鳞状细胞癌, 发生率上升10倍以上; 结直肠腺癌的发生率升高2倍以上^[7,8]. 本文报道了肾移植术后的肛门鳞状细胞原位癌1例和直肠腺癌1例, 并对相关文献进行了复习.

在2000年以后, 越来越多的英文文献报道了肾移植术后患者恶性肿瘤发病率的升高. 长期随访发现影响肾移植患者长期生存最重要的两个因素为心血管疾病与恶性肿瘤的发生. 其中心血管疾病发生率的增高很早就得到了广泛的认同, 而恶性肿瘤的发生则在正改变临床医生的观点. 更有观点认为在未来20年内恶性肿瘤可能取代心血管病而成为移植术后患者死亡的首要原因. 在移植患者中肿瘤的发生率随着术后时间的延长而增高, 3年累积发病率达7.5%, 10年为20%, 20年为30%^[9]. 在美国一项基于30年的病例总结中发现, 与普通人群相比, 实体器官移植术后10年, 患者结直肠癌发病率为正常人的2.6倍, 在50岁以下人群中则达到3倍. 在移植人群中肿瘤患者的确诊年龄为58.7岁, 显著低于一般人群的72岁; 在50岁以下人群中移植术后至确诊结直肠癌的平均时间为7.8年^[10]. 因此对于移植术后7年或更长的患者常规进行结直肠癌筛查可能有助于结直肠癌的早期诊断. 在

■ 相关报道

澳大利亚及新西兰肾透析及移植登记定期发布对于恶性肿瘤发生率的统计分析, 并以一种肿瘤为主要研究对象进行系统分析, 所有资料均可免费获得. 文献3、7、8、10均为近年移植后恶性肿瘤发生的重要文献.

■创新盘点

本文报道了肾移植术后的肛门鳞状细胞原位癌1例和直肠腺癌1例,对可能与肿瘤发生相关的病毒进行了检测,同时对直肠腺癌患者进行*K-ras*及*BRAF*基因测序,结果未发现人类乳头瘤病毒(human papillomavirus)或EB病毒(Epstein-Barr virus)的感染,*K-ras*及*BRAF*均为野生型。基于翔实的相关文献,本文对移植后消化系肿瘤的发生率、病因分析、肿瘤预后、癌前病变以及治疗等方面均进行了系统的综述与分析。

Revuelta等^[11]的研究中发现在肾移植后的结肠癌患者中41.7%的患者其癌前病变表现为憩室病或增生性息肉;25%的患者未发现癌前病变;在对照人群中50%的患者癌前病变表现为腺瘤;33.3%的患者无癌前病变,因此如何选择一种对于肾移植后患者更为适合的结直肠癌筛查方式可能还需要进一步的探索。移植术后的结直肠癌患者预后较一般人群差,5年生存率为30.7%,显著低于一般人群的63.5%^[10]。在澳大利亚和新西兰的统计中发现移植术后的结直肠癌患者,特别是55岁以上人群,其生存率仅为一般人群的21%-27%,女性患者更低,仅为一般人群的21%^[12]。移植术后的结直肠癌患者较一般人群更易出现转移(66.7% vs 25%)^[11]。不同的临床分期预后也不同,韩国报道病例中发现移植术后的早期结直肠癌患者其预后与一般人群无明显差别,但晚期结肠癌患者的2年生存率显著低于对照人群^[13]。

移植术后患者肿瘤发生的具体原因尚不明确,目前认为还是多因素相互作用的结果。长期的免疫抑制状态降低了机体的免疫防御功能一直都被认为是移植受者肿瘤发生率增高的原因之一。对比透析患者与肾移植术后患者恶性肿瘤发生率及发病特征发现移植术后患者恶性肿瘤的发病率较透析患者显著升高,并且所发生的恶性肿瘤多与病毒感染相关,如HPV、EBV等^[4],这也从另一个方面印证了上述观点。在Park等^[14]的研究中发现浸润于肿瘤组织中的淋巴细胞EBV感染率显著高于正常人群是免疫抑制状态下淋巴细胞监测与清除功能障碍的有利证据。在Park的病例对照研究中发现,在结直肠癌和高级别腺瘤患者中,EBV的感染率显著高于正常人群,达30.6%;肾移植术后高级别腺瘤发生的风险较正常人群高3.32倍,结直肠癌的发病风险则较正常人群高12倍;提示EBV感染可能在肾移植术后患者结直肠癌的发病过程中发挥重要的作用。EBV是常见的恶性肿瘤相关性DNA病毒,与鼻咽癌及淋巴造血系统肿瘤的发生密切相关。我国是EBV感染大国,虽然本文中的两例患者均未查及EBV、HPV的存在,但在肾移植术后患者的肠镜标本中检查EBV的存在可能对于结直肠癌的发现具有预警作用。长期的、系统的结肠镜检查及EBV等肿瘤相关病毒的检测或可作为肾移植术后肛门及结直肠肿瘤预警的重要手段。本文中肛门鳞状细胞原位癌

患者在术后9 mo时曾出现曲霉菌感染,提示该患者对于免疫抑制治疗相对敏感,淋巴细胞的监测清除功能更易受到影响,这可能与其在肾移植后较短时间内发生恶性肿瘤有一定的关系。另一方面,免疫抑制剂对于肿瘤发生的作用并不一致,其致肿瘤作用同样也倍受关注。以环孢菌素为代表的CNIs(calcineurin inhibitors, CNIs)类药物可以促进皮肤肿瘤及淋巴组织增生性疾病的发生,其他的免疫抑制剂类药物如抗白介素(IL-2)单抗、吗替麦考酚酯、他克莫司等均存在促进肿瘤发生的潜在风险。这些药物促进肿瘤发生发展的机制可能与提高各种生长因子,如:转化生长因子b(transforming growth factor b)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)的表达水平相关。尽管在体外实验中吗替麦考酚酯有较强的抑制胃癌、结肠癌、恶性黑色素瘤肿瘤细胞生长和血管生成的作用,而体内的实验则未能得到吗替麦考酚酯具有抑制胃癌、结肠癌和恶性黑色素瘤生长和扩散的有力证据,这种体内与体外截然相反的结果被认为可能与体内的生物利用率相关,在体内血药浓度的迅速下降可能是吗替麦考酚酯在体内缺乏抑制肿瘤作用的原因^[15]。以西罗莫司、雷帕霉素为代表的mTOR抑制剂在实现免疫抑制的同时也可以使Kaposi's肉瘤缩小^[16],随机对照实验也进一步证实在6-12 mo内使用西罗莫司可以改善肾移植患者中皮肤癌前病变或皮肤恶性非黑色素瘤的疾病状况^[17]。CONVERT试验也报道了在24 mo内以西罗莫司为基础的免疫抑制方案,不联合应用CNIs类药物可以显著降低皮肤恶性非黑色素瘤的发病率,其他器官肿瘤的发病率也有所降低,但其差异尚未达到统计学意义^[18]。这些结果都使我们可以期望调整免疫抑制剂用药而降低移植术后恶性肿瘤的发病率。本文中所报道的肛周鳞状细胞原位癌患者在原有近30年混合痔的基础上连续服用CNIs类药物2年,且与肛门鳞状细胞癌发生较密切的HPV检测阴性,考虑其鳞状细胞癌的发生可能与CNIs促进肿瘤发生的作用相关。

目前尚未见报道肾移植术后恶性肿瘤的患者的针对性治疗方案。研究发现在肾移植术后的结直肠癌患者中对结直肠肿瘤组织中发现存在AKT-mTOR信号转导通路的高度活化,mTOR和P70S6K的磷酸化状态均处于高表达状

态. 可以推测在肾移植术后的结直肠癌患者中应用西罗莫司、雷帕霉素为代表的mTOR抑制剂在控制排斥反应的同时, 可能对于控制结直肠癌也有一定的作用, 当然这还需要大样本随机对照试验的进一步验证. Revuelta等在移植后结肠癌患者中检测*K-ras*及*BRAF*的突变后发现, *K-ras*的突变仅存在于应用CNIs类药物的肾移植患者, 所有患者*BRAF*均为野生型. 本文中结肠癌患者肾移植术后长时间服用激素及MMF, *K-ras*及*BRAF*基因均为野生型, 与Revuelta的研究结果一致. 虽然该患者曾应用Cetuximab治疗, 但Cetuximab在移植术后结直肠癌患者中的治疗作用有待于更大样本的观察.

总之, 本文分别报道了肾移植术后直肠低分化腺癌1例及肛门鳞状细胞原位癌1例, 二者均以无痛性便血为首发症状. 直肠腺癌发生于移植术后14年, 肛门鳞状细胞原位癌则仅发生在移植术后2年. 随着肾移植及免疫抑制技术越来越成熟, 肾移植后恶性肿瘤的发病率将逐渐升高, 其筛查及早期发现与治疗的任務将日益突显. 目前我国还没有对于肾移植术后患者如何进行肿瘤筛查的指导原则; 根据流行病学特征, 及时制订对于肾移植术后患者全面的肿瘤筛查方案及指南是使恶性肿瘤患者得到早诊早治的重要措施.

4 参考文献

- Howard RJ, Patton PR, Reed AI, Hemming AW, Van der Werf WJ, Pfaff WW, Srinivas TR, Scornik JC. The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation. *Transplantation* 2002; 73: 1923-1928 [PMID: 12131689 DOI: 10.1097/00007890-200206270-00013]
- Webster A, Wong G, McDonald S. Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry. The 34th Annual Report. Appendix II. Available from: URL: http://www.anzdata.org.au/v1/report_2011.html
- Webster AC, Craig JC, Simpson JM, Jones MP, Chapman JR. Identifying high risk groups and quantifying absolute risk of cancer after kidney transplantation: a cohort study of 15,183 recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 2140-2151 [PMID: 17640312 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01908.x]
- Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, van Leeuwen MT, Stewart JH, Law M, Chapman JR, Webster AC, Kaldor JM, Grulich AE. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *JAMA* 2006; 296: 2823-2831 [PMID: 17179459 DOI: 10.1001/jama.296.23.2823]
- 范昱, 包尔敦, 刘志宏, 张先有, 谭建明. 肾移植术后恶性肿瘤47例分析. *中华器官移植杂志* 2003; 24: 115-116
- 董昌斌, 朱有华, 周梅生, 王亚伟, 闵志廉. 肾移植术后并发恶性肿瘤的临床分析. *临床泌尿外科杂志* 2004; 19: 67-68
- Villeneuve PJ, Schaubel DE, Fenton SS, Shepherd FA, Jiang Y, Mao Y. Cancer incidence among Canadian kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 941-948 [PMID: 17331115 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01736.x]
- Collett D, Mumford L, Banner NR, Neuberger J, Watson C. Comparison of the incidence of malignancy in recipients of different types of organ: a UK Registry audit. *Am J Transplant* 2010; 10: 1889-1896 [PMID: 20659094 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03181.x]
- Vasudev B, Hariharan S. Cancer after renal transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2007; 16: 523-528 [PMID: 18089965 DOI: 10.1097/MNH.0b013e3282f06bba]
- Johnson EE, Levenson GE, Pirsch JD, Heise CP. A 30-year analysis of colorectal adenocarcinoma in transplant recipients and proposal for altered screening. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 272-279 [PMID: 17458597 DOI: 10.1007/s11605-007-0084-4]
- Revuelta I, Moya-Rull D, García-Herrera A, Rovira J, Ayala de la Peña F, Misiego A, Guzmán F, Oppenheimer F, Albanell J, Campistol JM. Role of oncogenic pathways and KRAS/BRAF mutations in the behavior of colon adenocarcinoma in renal transplant patients. *Transplantation* 2012; 93: 509-517 [PMID: 22245873 DOI: 10.1097/TP.0b013e318242be46]
- Webster A, Wong G, McDonald S. Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry. The 32th Annual Report. Chapter 10, Cancer report 2009 Available from: URL: http://www.anzdata.org.au/v1/report_2009.html
- Kim JY, Ju MK, Kim MS, Kim NK, Sohn SK, Kim SI, Kim YS. Clinical characteristics and treatment outcomes of colorectal cancer in renal transplant recipients in Korea. *Yonsei Med J* 2011; 52: 454-462 [PMID: 21488188 DOI: 10.3349/ymj.2011.52.3.454]
- Park JM, Choi MG, Kim SW, Chung IS, Yang CW, Kim YS, Jung CK, Lee KY, Kang JH. Increased incidence of colorectal malignancies in renal transplant recipients: a case control study. *Am J Transplant* 2010; 10: 2043-2050 [PMID: 20883538 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03231.x]
- Koehl GE, Wagner F, Stoeltzing O, Lang SA, Steinbauer M, Schlitt HJ, Geissler EK. Mycophenolate mofetil inhibits tumor growth and angiogenesis in vitro but has variable antitumor effects in vivo, possibly related to bioavailability. *Transplantation* 2007; 83: 607-614 [PMID: 17353782 DOI: 10.1097/01.tp.0000253756.69243.65]
- Stallone G, Schena A, Infante B, Di Paolo S, Loverre A, Maggio G, Ranieri E, Gesualdo L, Schena FP, Grandaliano G. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; 352: 1317-1323 [PMID: 15800227 DOI: 10.1056/NEJMoa042831]
- Salgo R, Gossman J, Schöfer H, Kachel HG, Kuck J, Geiger H, Kaufmann R, Scheuermann EH. Switch to a sirolimus-based immunosuppression in long-term renal transplant recipients: reduced rate of (pre-)malignancies and nonmelanoma skin cancer in a prospective, randomized, assessor-blinded, controlled clinical trial. *Am J Transplant* 2010; 10: 1385-1393 [PMID: 20121752 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02997.x]

■应用要点

随着肾移植及免疫抑制技术越来越成熟, 肾移植后恶性肿瘤的发病率将逐渐升高, 其筛查及早期发现与治疗的任務将日益突显. 目前我国还没有对肾移植术后患者如何进行肿瘤筛查的指导原则; 根据流行病学特征, 及时制订对于肾移植术后患者全面的肿瘤筛查方案及指南是使恶性肿瘤患者得到早诊早治的重要措施.

■同行评价

本文内容比较重要, 提供了充足的有意义的信息, 新颖性较好, 有一定指导意义.

- 18 Alberú J, Pascoe MD, Campistol JM, Schena FP, Rial Mdel C, Polinsky M, Neylan JF, Korth-Bradley J, Goldberg-Alberts R, Maller ES. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to

sirolimus-based, calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2011; 92: 303-310 [PMID: 21792049 DOI: 10.1097/TP.0b013e3182247ae2]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇, 退稿887篇, 退稿率57.63%, 发表文章652篇, 所有文章均经过编委专家同行评议. 其中, 发表述评34篇(5.21%), 基础研究94篇(14.42%), 临床研究61篇(9.36%), 焦点论坛20篇(3.07%), 文献综述114篇(17.48%), 研究快报86篇(13.19%), 临床经验222篇(34.05%), 病例报告21篇(3.22%); 文章作者分布遍及全国各地, 绝大多数来自高等院校及附属医院. 在此, 特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家, 你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献; 也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章, 为科学知识的传播做出贡献! (《世界华人消化杂志》编辑部)

贾第虫病1例

夏菲, 杨巍, 王雪莲, 李智伟

夏菲, 杨巍, 王雪莲, 李智伟, 中国医科大学附属盛京医院 辽宁省沈阳市 110004

夏菲, 在读博士, 主要从事肝纤维化的研究。

作者贡献分布: 夏菲对此文作主要贡献; 本文资料整理由夏菲与杨巍完成; 本文写作由夏菲完成; 本文审校由王雪莲与李智伟负责完成。

通讯作者: 李智伟, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院感染科. lizw@sj-hospital.org
电话: 024-96615-62311

收稿日期: 2013-04-09 修回日期: 2013-04-23

接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-07-08

A case of giardiasis

Fei Xia, Wei Yang, Xue-Lian Wang, Zhi-Wei Li

Fei Xia, Wei Yang, Xue-Lian Wang, Zhi-Wei Li, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Zhi-Wei Li, Professor, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. lizw@sj-hospital.org

Received: 2013-04-09 Revised: 2013-04-23

Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-07-08

Abstract

Giardiasis is one of ten major parasitic diseases endangering human health around the world, and it is also prevalent in China. Because of insufficient awareness, a delay in diagnosis and treatment of this disease is common clinically. Here we report a case of giardiasis to improve the clinician's awareness of this disease in the diagnosis and treatment of diarrhea.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Giardiasis; Diarrhea; Diagnosis

Xia F, Yang W, Wang XL, Li ZW. A case of giardiasis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(19): 1899-1900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1899.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1899>

摘要

贾第虫病被列为全世界危害人类健康的十种主要寄生虫病之一, 在我国亦普遍流行。但在临床工作中, 因认识不足, 易延误患者诊治。本

文通过报告一例明确诊断贾第虫患者的临床资料及诊治经过, 望提高广大临床医师对该病的重视, 拓展临床腹泻患者的诊治思路。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 贾第虫病; 腹泻; 诊断;

核心提示: 临床医生应提高对贾第虫病的认识。对于急慢性腹泻患者应考虑到该病, 粪便中检测到蓝氏贾第鞭毛虫滋养体或包囊, 即可确诊。对确诊患者和高度怀疑本病者应给予抗病原体药物治疗。

夏菲, 杨巍, 王雪莲, 李智伟. 贾第虫病1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(19): 1899-1900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1899.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i19.1899>

0 引言

贾第虫病是由蓝氏贾第鞭毛虫寄生在人体小肠引起的原虫性疾病。临床上以腹泻、腹痛及腹胀等为主要表现, 并可引起胆囊炎、胆管炎及肝脏损害。本病已被列为全世界危害人类健康的十种主要寄生虫病之一^[1]。除地方性流行外, 还可导致水源性暴发性流行。世界范围的感染率约为1%-20%, 我国的流行也相当普遍, 呈全国性分布, 感染率平均约为2.54%。但在临床工作中, 该病往往被忽视, 而延误病情。下面对我科门诊诊治的1例贾第虫患者的临床资料进行整理, 情况如下。

1 病例报告

男, 58岁, 以“腹泻腹痛、发热3 d”为主诉就诊于我肠道门诊。患者于2012-09-09无明显诱因出现腹泻, 每日排稀水样便10余次, 见少量黏液, 未见脓血, 无里急后重, 伴恶心, 未吐, 上腹部绞痛, 发热, 体温最高38.0℃, 乏力, 食欲减退, 进食明显减少。曾于外院就诊, 诊断“急性肠炎”, 先后口服磷霉素钙及诺氟沙星治疗无好转。患者既往体健, 否认慢性病史, 无手术史。流行病

■背景资料

贾第虫病被列为全世界危害人类健康的十种主要寄生虫病之一, 在我国亦普遍流行。但在临床工作中, 因该病临床表现复杂多样, 极易与其他疾病相混淆, 且临床医师对该病认识不足, 易忽视或延误了本病的治疗。本文通过报告一例明确诊断贾第虫患者的临床资料及诊治经过, 望提高广大临床医师对该病的重视, 拓展临床腹泻患者的诊治思路。

■同行评议者

段义农, 教授, 南通大学医学院病原生物学系

■应用要点

本文详细介绍了贾第虫病的流行病学特征、临床表现、诊断及治疗,拓展临床腹泻患者诊治思路。



图1 便寄生虫镜检结果

学史:无腹泻患者接触史。平素于花圃工作,主要工作为培土,常在工作地就餐,卫生条件差,不注意手卫生。查体:一般状态可,乏力状,神志清楚,轻度脱水貌,睑结膜无苍白,皮肤巩膜无黄染,腹平坦,软,上腹部压痛,无反跳痛,四肢活动正常。辅助检查:(2012-09-11我院)血常规:WBC $11.25 \times 10^9/L$, NE% 60.30%, LY% 22.6%, RBC $5.04 \times 10^{12}/L$, Hb 174.7 g/L, PLT $293 \times 10^9/L$ 。肠道常规:白细胞及红细胞均阴性。便寄生虫镜检找到大量蓝氏贾第鞭毛虫滋养体(图1)。该患者明确诊断为“贾第虫病”,予甲硝唑200 mg/次,3次/d,连服7 d。

患者治疗7 d后复诊,腹泻腹痛等不适症状经甲硝唑治疗后逐渐减轻,于治疗第3日起基本缓解,复诊时无自觉不适,查体无异常,复查血常规无异常,连3 d复查便寄生虫镜检均阴性。

2 讨论

自20世纪70年代以来,在世界各地相继发生了贾第虫病的流行或暴发流行,相关的研究也确认蓝氏贾第鞭毛虫是导致人类腹泻的最主要寄生性原虫,估计每年导致约2.8亿人感染^[2]。各年龄组均可受感染,儿童、年老体弱者和免疫功能缺陷者尤其易感。本病不仅多见于热带和亚热带地区,甚至寒冷地区也有病例报导。我国的流行也相当普遍,呈全国性分布,根据最近的资料,北京和甘肃粪检结果为2.7%,浙江乐清县粪检为2.5%,辽宁朝阳市农民粪检为6.1%,沈阳为12.5%。

■同行评价

本文病例介绍对临床贾第虫病的诊断有一定价值。

人畜因误食蓝氏贾第鞭毛虫包囊污染的水或食物而感染,传染源主要为恢复期患者与无症状包囊携带者,后者由于粪便中排出包囊数量很大,是更重要传染源。家畜和动物如猫、牛、羊、猪、犬、水獭、海狸等均可作为保虫宿主。该病潜伏期一般1-3 wk,平均9-15 d。临床表现复杂多样,从急慢性腹泻、腹痛、恶心、呕吐、胃肠胀气到无明显临床症状,极易与其他疾病相混淆,从而忽视或延误了本病的治疗。

本例患者急性起病,腹泻、腹痛、发热,化验白血细胞升高,易考虑为急性肠道细菌性感染,但应用常规抗生素治疗无效,此时我们应该拓展诊治思路,想到其他疾病的可能性,并逐一排查。该例患者通过粪便寄生虫镜检找到大量蓝氏贾第鞭毛虫滋养体,明确诊断,并得到治愈。因此在诊疗过程中,临床医生应提高对该病的认识。对于急慢性腹泻,除外其他胃肠道疾病,考虑感染导致,经抗菌对症治疗无效的患者,需考虑肠道寄生虫病。贾第虫病的诊断并不难,根据患者有腹泻、腹胀、上腹部疼痛或不适感,并于粪便中检测到蓝氏贾第鞭毛虫滋养体或包囊,即可诊断。对确诊患者和高度怀疑本病者应给予抗病原体药物治疗。甲硝唑为目前治疗本病首选药物。成人200 mg/次,3次/d,连服5-7 d,疗效可达90%以上。儿童15-20 mg/(kg·次),3次/d,连服5-7 d。一般服药3 d粪中原虫即可转阴,症状逐渐消失。常见不良反应有口腔金属味感、恶心、倦怠、嗜睡等。服药期间应禁酒,孕妇及哺乳期患者禁用。另外,替硝唑、呋喃唑酮、阿苯达唑等药物也有临床应用^[3,4]。

3 参考文献

- 1 李雍龙. 人体寄生虫学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 50-53
- 2 Geurden T, Vercruysse J, Claerebout E. Is Giardia a significant pathogen in production animals? *Exp Parasitol* 2010; 124: 98-106 [PMID: 19285075 DOI: 10.1016/j.exppara.2009.03.001]
- 3 冯宪敏, 朱枫, 藏秋雨, 卢思奇. 抗蓝氏贾第鞭毛虫药物研究进展. *中国人兽共患病学报* 2010; 26: 779-780
- 4 Granados CE, Reveiz L, Uribe LG, Criollo CP. Drugs for treating giardiasis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD007787 [PMID: 23235648 DOI: 10.1002/14651858.CD007787.pub2]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈海龙 教授
大连医科大学附属第一医院院办

陈亚军 教授
首都医科大学附属北京儿童医院普外科

樊冬梅 副主任医师
广州中医药大学第一附属医院消化内科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

傅晓辉 副教授
东方肝胆外科医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

黄培林 教授
东南大学肿瘤学

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

李国威 教授
西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

卢晓梅 教授
新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

王承党 教授
福建医科大学附属第一医院消化内科

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

徐健 副主任医师
深圳市慢性病防治中心

杨薇 副教授
北京大学肿瘤医院超声科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

禹正杨 副教授
南华大学附属第一医院

张俊 副研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

赵刚 副教授
协和医院胰腺病研究所

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

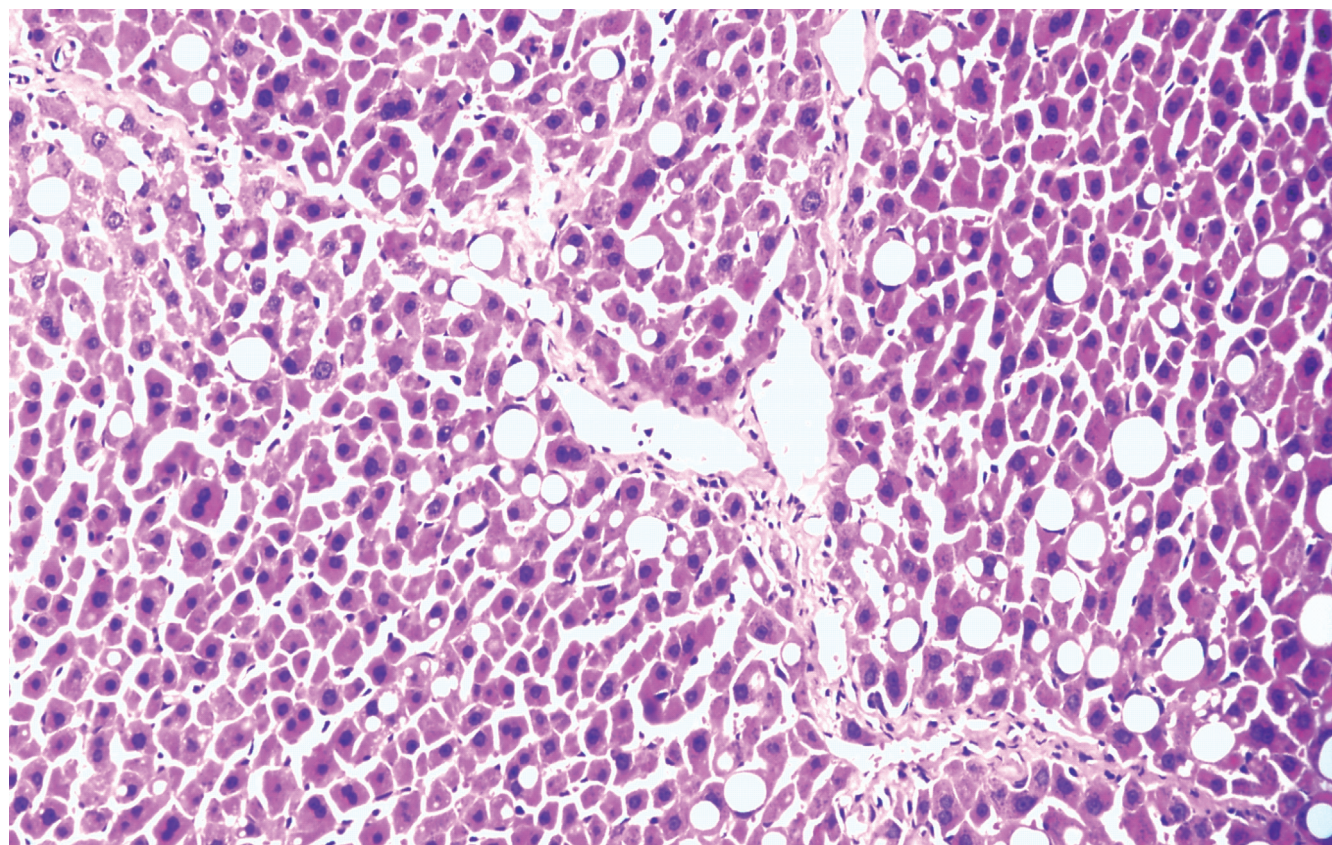


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 7 月 18 日 第 21 卷 第 20 期 (Volume 21 Number 20)



20 / 2013

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年7月18日 第21卷 第20期 (总第424期)

述 评	1901 慢性萎缩性胃炎实验动物模型的建立和研究进展 冷秀梅, 魏睦新
基础研究	1907 新疆哈萨克族胃癌中 <i>Smad4</i> 基因启动子的甲基化状态 刘奎, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇 1914 内外源性GAS对二甲基胍诱导的大鼠大肠癌变中EGF和PGE ₂ 表达的影响 张曼曼, 彭涛, 赵逵
临床研究	1925 选择性肝动脉栓塞治疗巨大肝血管瘤46例 范沙丽, 佟小强, 王健, 宋莉 1931 AFP含量和寄生血管对中晚期肝癌患者TACE治疗的影响 何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 林志东, 谢协驹, 李孟森
文献综述	1939 <i>BRCA1</i> 在胃癌中的研究进展 钟国栋, 余英豪 1945 肝硬化患者生存质量及相关因素的研究进展 邓文君, 张海蓉, 石围 1950 炎症免疫与肠易激综合征关系的研究进展 庄李磊, 胡团敏
研究快报	1955 NF- κ B、Bcl-2在大鼠非酒精性肝病肝细胞凋亡中的作用 石海燕, 李珏宏, 李昌平, 康敏, 钟晓琳 1961 角质细胞生长因子对胰腺癌细胞生物学行为的影响 金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明 1966 pAcGFP1-N1-FOXQ1真核表达载体的构建及在大肠癌细胞系Colo-320中的表达 岳柯琳, 唐慧, 郭强
临床经验	1972 内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色诊断早期食管癌 陈昱倩, 王光铭, 章红梅 1977 超声内镜与CT检查在食管胃结合部腺癌术前TN分期中的临床对比 汪泳, 张方信, 常宗宏, 刘鑫, 邓尚新, 赵海霞 1982 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎疗效的Meta分析 孔岩君, 李勇, 李文林, 刘皓, 魏睦新 1987 胃癌中CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3的去甲基化 王柏清, 刘文天, 刘应莉, 孙光斌 1992 内镜腹腔镜治疗胰腺假性囊肿56例 钱东, 秦鸣放 1996 布托啡诺联合异丙酚用于无痛肠镜70例 赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲 2000 老年功能性便秘患者盆底表面肌电与临床症状的相关性 关丽婷, 邓罡, 徐丽姝
病例报告	2005 溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化1例 宋淑然

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1906 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1913 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1924 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1930 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1938 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1944 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1960 《世界华人消化杂志》栏目设置 1971 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1976 《世界华人消化杂志》出版流程 1995 《世界华人消化杂志》正文要求 1999 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2008 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	石海燕, 李珏宏, 李昌平, 康敏, 钟晓琳. NF- κ B、Bcl-2在大鼠非酒精性肝病肝细胞凋亡中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1955-1960 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1955.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1955
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-07-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

July 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 20

EDITORIAL	1901 Advances in development of animal models of chronic atrophic gastritis <i>Leng XM, Wei MX</i>
BASIC RESEARCH	1907 DNA methylation of <i>Smad4</i> promoter in gastric cancer in Xinjiang Kazak patients <i>Liu X, Chen WG, Li R, Liu F, Liu XY, Kang X, Ma C, Dou YQ, Zheng Y</i> 1914 Effect of endogenous and exogenous gastrin on PGE2 and EGF expression in dimethylhydrazine-induced colorectal cancer in rats <i>Zhang MM, Peng T, Zhao K</i>
CLINICAL RESEARCH	1925 Transarterial embolization for treatment of giant hepatic hemangiomas: An analysis of 46 cases <i>Fan SL, Tong XQ, Wang J, Song L</i> 1931 Association of alpha fetoprotein levels and presence of parasitical blood vessels with response to TACE in patients with advanced liver cancer <i>He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Lin ZD, Xie XJ, Li MS</i>
REVIEW	1939 Progress in research of the <i>BRCA1</i> gene in gastric cancer <i>Zhong GD, Yu YH</i> 1945 Factors affecting quality of life in patients with cirrhosis <i>Deng WJ, Zhang HR, Shi W</i> 1950 Advances in understanding the relationship between inflammatory immune response and irritable bowel syndrome <i>Zhuang LL, Hu TM</i>
RAPID COMMUNICATION	1955 Role of NF- κ B and Bcl-2 in hepatocyte apoptosis in rats with NAFLD <i>Shi HY, Li YH, Li CP, Kang M, Zhong XL</i> 1961 Role of KGF in regulating biological behavior of pancreatic cancer cells <i>Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M</i> 1966 Construction of a eukaryotic expression vector expressing FOXQ1 and its expression in colorectal cancer cell line Colo-320 <i>Yue KL, Tang H, Guo Q</i>
CLINICAL PRACTICE	1972 Endoscopic acetic acid-Lugol's iodine double staining for diagnosis of early esophageal cancer <i>Chen YQ, Wang GM, Zhang HM</i> 1977 EUS versus CT for preoperative TN staging of adenocarcinoma of the esophagogastric junction <i>Wang Y, Zhang FX, Chang ZH, Liu X, Deng SX, Zhao HX</i> 1982 Combination of Chinese and Western medicine for treatment of chronic atrophic gastritis: A meta-analysis <i>Kong YJ, Li Y, Li WL, Liu H, Wei MX</i> 1987 DNA hypomethylation of <i>CAGE</i> , <i>MAGE-A1</i> and <i>MAGE-A3</i> genes in gastric carcinoma <i>Wang BQ, Liu WT, Liu YL, Sun GB</i> 1992 Diagnosis and treatment of pancreatic pseudocysts by endoscopy and laparoscopy: Our experience with 56 cases <i>Qian D, Qin MF</i> 1996 Clinical effect of use of Bhutto butorphanol combined with propofol in painless colonoscopy: An analysis of 70 cases <i>Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K</i> 2000 Effect of biological feedback therapy on clinical symptoms and pelvic floor muscle surface electromyography in elderly patients with chronic functional constipation <i>Guan LC, Deng G, Xu LS</i>
CASE REPORT	2005 Ulcerative colitis with primary biliary cirrhosis: A case report <i>Song SR</i>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Shi HY, Li YH, Li CP, Kang M, Zhong XL. Role of NF-κB, Bcl-2 in hepatocyte apoptosis in rats with NAFLD. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(20): 1955-1960 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1955.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1955
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date July 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

慢性萎缩性胃炎实验动物模型的建立和研究进展

冷秀梅, 魏睦新

冷秀梅, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科, 南京医科大学中西医结合研究所 江苏省南京市 210029
魏睦新, 教授, 主要从事消化病中西医结合的基础与临床研究. 近年主攻胃癌前期病变发病危险因素与中医药逆转的机制. 江苏省中医药管理局基金资助项目, No. JD11040
作者贡献分布: 魏睦新完成本论文的策划设计与全文审定; 冷秀梅负责资料收集、分析研究及文章撰写.
通讯作者: 魏睦新, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科, 南京医科大学中西医结合研究所. weimuxin@njmu.edu.cn
电话: 025-68136267
收稿日期: 2013-04-08 修回日期: 2013-04-24
接受日期: 2013-07-01 在线出版日期: 2013-07-18

Advances in development of animal models of chronic atrophic gastritis

Xiu-Mei Leng, Mu-Xin Wei

Xiu-Mei Leng, Mu-Xin Wei, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Institute of Integrative Medicine of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the Foundation of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. JD11040
Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Institute of Integrative Medicine of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn
Received: 2013-04-08 Revised: 2013-04-24
Accepted: 2013-07-01 Published online: 2013-07-18

Abstract

Chronic atrophic gastritis (CAG) is a precancerous disease whose research and treatment have attracted much attention. Development of animal models of CAG is very important for the research of this disease. Wistar rats and SD rats are mainly experimental animals used for modeling; however, the age and sex of these animals differ among different studies, although many scholars believe that these factors might affect experimental results. *Helicobacter pylori* is a common risk factor for CAG and can be used to create CAG model successfully, but this method is time-consuming and the induced pathological changes are not stable. N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, ammonia, sodium deoxycholate, and sodium salicylate are currently commonly used substances for inducing

CAG. These substances can be used either alone or in combination to induce CAG successfully; however, the consistent dosage and perfusion time standards have not been established. In addition, combination of disease and syndrome by traditional Chinese medicine can also be used to model CAG. This article reviews recent advances in the development of animal models of CAG.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; Animal models; Combination of disease and syndrome

Leng XM, Wei MX. Advances in development of animal models of chronic atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1901-1906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1901.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1901>

摘要

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)作为胃癌前期疾病的一种, 其研究与治疗都备受瞩目. 尤其是动物模型的造模, 还有很多值得探索的地方. 本文首先探讨了实验动物的选择, 认为主要用来造模的实验动物为Wistar大鼠和SD大鼠, 但其年龄、性别的选择尚不统一, 许多学者认为这些因素可能对实验造成影响. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)作为慢性萎缩性胃炎的一种常见致病因素, 虽然可成功造模, 但造模时间较长且病理改变不稳定. N-甲基-N'-硝基-亚硝基胍、氨水、脱氧胆酸钠、水杨酸钠等均是目前常用的造模物质, 其单独及联合使用均能成功造模, 然而其剂量及灌胃时间等尚没有统一标准. 此外, 还介绍了中医病证结合的造模方法, 提出证候与客观评价指标等转换问题. 本文总结了复制CAG实验动物模型的研究现状, 有助于使CAG实验动物模型的复制更加严谨、规范和科学.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性萎缩性胃炎; 实验动物模型; 病证结合

核心提示: 本文从实验动物的选择、使用较为广泛的生物造模方法、化学造模方法以及中医病

■背景资料

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)作为胃癌前期疾病的一种, 其逆转可有效降低胃癌的发病率及死亡率. 故如何成功复制理想的CAG实验动物模型, 对研究CAG的预防、发病机制以及逆转治疗具有至关重要的作用.

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科; 刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿

目前主要为诱导模型,其科学性、规范性有待进一步提高。复合造模法,虽然其成功率较高,造模时间较短,但药物剂量、实验条件等尚未统一,寻找快速建造稳定的慢性萎缩性胃炎实验动物模型的方法并使其规范化是亟待解决的问题。

证结合的造模方法几个方面,评述各自方法的特点与利弊,对目前常用的造模方法进行了分析与归纳,以期研究者提供参考及启发新的思路。

冷秀梅,魏睦新.慢性萎缩性胃炎实验动物模型的建立和研究进展.世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1901-1906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1901.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1901>

0 引言

胃癌作为我国第3大最常见的恶性肿瘤,虽然其年均肿瘤发病死亡率有所下降,但人口增长和老龄化也使其发病死亡的绝对数目呈增长趋势,已经成为我国近年来卫生健康的巨大负担^[1]。关于胃癌的形成,有多种学说。早在1975年Correa就提出了一个渐进演变模式:正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)-肠上皮化生-不典型增生-胃癌,众多基因及分子改变的累积与这一演变过程密切相关^[2]。CAG是胃癌的癌前期疾病,尤其是伴有肠上皮化生及不典型增生这些胃癌癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)的CAG与胃癌的发病高度相关^[3],所以如果能够有效逆转CAG与PLGC,可以大幅度降低胃癌的发病率^[4]。如何成功复制理想的CAG实验动物模型,对研究CAG的预防、发病机制以及逆转治疗具有至关重要的作用。目前CAG实验动物模型主要为诱导模型,即在人为控制的条件下模拟致病因素等来复制出CAG以及肠化、不典型增生等癌前病变。其优点是方便、目的性强、相对快速等。除此之外,还有自发性动物模型,即病变完全在自然条件下发生,排除人为干扰,具有高度相似性的优点,但由于耗时较长、耗资量大等缺点而极少被使用。本文就将实验动物的选择和近年来使用较多的造模方法作一分析评述。

1 模型动物的选择

在现代实验研究中,实验动物被广泛用来复制人类疾病模型,从而研究疾病的发生、发展机制和治疗方法等。他是实验医学的重要基础。只有选择公认的实验动物模型其实验结果才有一定的可信度,故对实验动物模拟疾病的相似性等有一定的要求^[5]。

朱萱萱等^[6]在研究CAG脾气虚证模型建立的过程中也发现♂大鼠较♀大鼠对N-甲基-N-硝基-亚硝基胍(N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguan-

dine, MNNG)的毒性有更好的耐受性,并且认为实验动物选择5-6 wk较适宜。而劳绍贤等^[7]则认为实验动物模型不应该局限于大鼠这一单一的动物种类,应复制出多种动物种类尤其是大型动物模型。如10年前Oda等^[8]就使用幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)在日本猴子身上复制出萎缩性胃炎的病理改变,并证明长期感染*H. pylori*会引起肿瘤抑制基因*p53*突变的积累。

部分研究萎缩性胃炎与胃癌关系的动物模型,涉及到致癌物的选择。万继英等^[9]认为在诱导模型的建立中,动物和致癌物的选择极为重要,且可以通过控制致癌物的剂量来控制诱癌时间和程度。这是因为不同的动物或同一动物的不同品系对致癌物的敏感性不同,而致癌物的剂量也会影响造模成功与否以及造模所需的时间长短等。另外,Peraino等^[10]与Mitaka等^[11]的研究认为大鼠的年龄和性别均对致癌的敏感性有影响,一般认为♂较♀诱发成功率高,其机制可能与激素有关;并认为鼠龄与致癌敏感性的关系看法较统一,应选用未成年大鼠,以4-8 wk多见,也有用新生大鼠,他们的诱发率高于年龄较大者,这可能与其组织中的干细胞或幼稚细胞以及细胞的增生状态有关。

综合国内研究现状看来,目前用来复制CAG实验动物模型的大鼠品系尚统一,多为Wistar和SD大鼠,也有研究者使用蒙古沙鼠,尤其是针对*H. pylori*的研究^[12]。但对其年龄、性别、体质量等的选择则未给予足够的重视,且没有研制出统一的标准。这对实验结果的可信性、参考性以及临床应用价值均会造成一定影响。不仅如此,如果能复制出其他动物模型,或建造出CAG的自发性动物模型,甚至利用细胞分子水平的新技术比如基因敲除等造模,将可以更好的研究CAG的机制与治疗方法,并且使结果更具有说服力。

2 实验动物造模方法

2.1 *H. pylori*法 Bergin等^[13]探讨了*H. pylori*感染和高盐饮食作为独立变量导致的胃黏膜改变,经过37 wk,全部5例受感染的动物都出现了萎缩性胃炎、肠上皮化生的病理改变。Jin等^[14]用*H. pylori*的悬浮液给大鼠灌胃复制出CAG动物模型。

*H. pylori*不仅引起胃黏膜炎性改变、消化性溃疡^[15,16],还可进一步导致胃腺体萎缩^[17]、肠上皮化生^[18]、不典型增生和胃癌^[19-21]及其他病变^[22],是常见的致病因素,因此也是常见的造模方法,

长期以来一直被广泛使用. 但单纯用其造模所需时间一般较长, 且造模时间及其病理改变等存在很大差距, 模型不稳定, 故大多用于药物根除细菌的效应研究^[23].

2.2 MNNG法 Nagahara等^[24]对成年♀Wistar大鼠分别使用100 $\mu\text{g/mL}$ 的MNNG溶液诱导8和30 wk的方法成功建立CAG动物模型, 并认为这种模型对调查研究CAG发展成胃癌的过程很有帮助. Miwa等^[25]分析大鼠CAG的增殖和分化的标记研究中, 也使用让大鼠自由饮用100 $\mu\text{g/mL}$ 的MNNG溶液成功造模, 且表明在造模8 wk的时候即出现黏膜萎缩.

MNNG法是大家公认的CAG造模方法, 并在此基础上不断加以改进, 综合其他因素来造模均取得成功, 但其剂量及灌胃时间等均没有统一标准. 袁孝兵^[26]认为50-100 $\mu\text{g/mL}$ 的MNNG液较为合理, 浓度过低则模型复制时间过长, 成功率低; 浓度过高易出现结肠癌等其他肿瘤. 灌胃量应控制在每只一次1-4 mL为宜. 在给药时间上, 一般采用限期给药法或连续给药法. 魏玥等^[27]发现用去离子水配成120 $\mu\text{g/mL}$ 的MNNG溶液5 mL/kg灌胃, 1次/d, 比自由饮用方式造模效果更佳. 在20 wk时大鼠胃黏膜即出现萎缩征象, 如轻度炎症、固有腺体减少等, 30 wk左右大鼠胃黏膜出现轻-中度异型增生等, 大鼠模型基本稳定.

2.3 氨水法与脱氧胆酸钠法 何晓辉等^[28]用6 wk的健康SD大鼠100只, 雌雄各半, 适应性喂养1 wk后, 以每天新鲜配制的0.1%氨水代水自由饮用, 连续造模180 d, 造模结束前随机抽取5只进行胃黏膜病理组织学检查以确认造模成功. 结果模型组大鼠的胃黏膜表面可见黏膜层明显变薄, 腺体数目明显减少, 体积缩小, 黏膜下小血管清晰可见等病理改变, 并有少数大鼠出现肠上皮化生.

戴关海等^[29]采用脱氧胆酸钠联合主动免疫、300-600 mL/L乙醇法刺激大鼠胃黏膜复制CAG动物模型. 3 mo后取胃组织进行病理检查, 发现模型组大鼠胃黏膜萎缩变薄, 腺体数量减少, 间质内有多量急、慢性炎细胞浸润等, 即CAG大鼠模型复制成功. 李红平等^[30]以0.2%的脱氧胆酸钠溶液灌胃, 1.5 mL/(只·d), 与脱氧胆酸钠溶液灌胃间隔5 h, 用50 $^{\circ}\text{C}$ 热水2 mL/(只·d)灌胃, 并且加用饥饱失常法连续造模8 wk后, 在光镜下观察, 确定CAG大鼠造模成功.

正常胃黏膜处于pH 2.0的强酸环境, 给予氨

水或脱氧胆酸钠后, 模拟了碱性环境对胃黏膜的损害, 为模拟临床常见病因的造模方法.

2.4 水杨酸钠法 Shao等^[31]在探讨He-Ne激光照射对CAG作用的实验中, 对模型组的♂Wistar大鼠使用2%水杨酸钠与30%乙醇的混合溶液灌胃, 并结合不规则禁食以及强迫运动的方法复制CAG实验动物模型. 诱导8 wk后将大鼠麻醉后开腹取胃黏膜组织, 病理检查可见模型组大鼠的胃黏膜厚度小于正常组, 有大量炎性细胞浸润等特点, 结果成功建造CAG模型.

由于风湿病、心脏病等使用非甾体类药物, 是临床导致胃黏膜萎缩的一个公认的原因^[32]. 水杨酸钠主要通过局部的直接刺激引起胃黏膜炎性反应, 胃黏膜细胞脱落, 并抑制胃黏膜的生长, 使其失去正常的抵抗力. 同时水杨酸钠抑制PG的合成, 减弱PG对胃黏膜的保护作用^[33].

2.5 复合造模法 氨水+脱氧胆酸钠: 黄妙珍等^[34]在探讨补气养阴解毒法对CAG模型大鼠生长抑素(growth hormone, SS)和生长激素(somatostatin, GH)影响的实验中, 选择♀SD大鼠, 20 mmol/L的脱氧胆酸钠每日灌胃及60%乙醇, 剂量6 mL/kg, 其中每周二、周五空腹灌胃, 0.1%氨水自由饮用, 连续26 wk. 结果各组大鼠胃黏膜均出现不同程度的萎缩. Liu等^[35]使用0.1%氨水、60%的酒精和20 mmol/L的脱氧胆酸24 wk也同样成功造模, 并研究了替普瑞酮对CAG进展的影响及作用机制. 张莲等^[36]在观察黄芪皂苷对CAG大鼠的治疗作用以及对髓样分化因子(MyD88), Toll样受体4的影响实验中, 用20 mmol/L的脱氧胆酸钠2 mL每日空腹灌胃; 现配的0.02%的氨水溶液供动物每日自由饮用, 配合饥饱失常, 造模成功. 说明这一方法目前使用较广泛且成功率较高.

脱氧胆酸钠+水杨酸钠: Wang等^[37]在CAG2模型组用2%水杨酸钠, 20 mmol/L的脱氧胆酸钠复制模型, 在光学显微镜下观察大鼠胃黏膜病理改变, 证实CAG造模成功. 龚占悦等^[38]采用如下方法造模: 用2%水杨酸溶液及150 g/L、55 $^{\circ}\text{C}$ 热盐水10 mL/(kg·d)灌胃; 20 mmol/L脱氧胆酸钠溶液自由饮用; 配以饥饱失常处理(2 d饱食, 1 d禁食). 造模2 mo后, 病理观察可见黏膜腺体有不同程度的萎缩或消失, 多数腺体结构排列紊乱等, 表明造模成功.

氨水+水杨酸钠+去氧胆酸钠: 舒劲等^[39]采用30%乙醇与2%水杨酸钠混合液与10 mmol/L去氧胆酸钠灌胃, 0.05%氨水日常饮用, 结合主动免疫法, 并令其饥饱失常的综合方法诱发大

■ 相关报道

慢性萎缩性胃炎的造模一直以来备受关注, 许多造模方法已被实验研究证实. 除此之外, 聂芳敏等在实验性大鼠萎缩性胃炎动物模型的造模方法研究中, 不仅确定了药物的最佳浓度, 还对几种造模方法作出比较及评价.

■创新盘点

本文总结比较了目前使用较多的造模方法,探讨了中医病证结合造模方法,并提出需要进一步改善的问题,按照造模的原理,突出了各种造模方法的区别。

鼠CAG模型.连续造模60 d,于30、60 d随机处死大鼠检查提示CAG动物模型复制成功.冯秀雪等^[40]在探讨建造CAG动物模型对肝脏的影响的研究中,按1 mL/100 g的标准灌胃,1次/d,健康Wistar大鼠自由饮用0.1%氨水,前10 wk用2%水杨酸钠和300 mL/L乙醇混合溶液灌胃,后12 wk用20 mmol/L去氧胆酸钠溶液灌胃.结果模型组大鼠一般情况较差,出现胃窦腺体萎缩明显,黏膜层变薄等病理改变,造模成功,且两组肝脏病理均无明显异常。

去氧胆酸钠+氨水+吡啶美辛:王常松等^[41]使用综合法造模,即每周用600 mL/L乙醇空腹灌胃2次,每次8 mL/kg;20 mmol/L去氧胆酸钠灌胃,1次/d,每次8 mL/kg;大鼠日常自由饮用0.05%-0.10%氨水;0.05%吡啶美辛灌胃,1次/d,每次8 mL/kg;并结合饥饱失常法.分别在造模8、12、16 wk随机各处死1只鼠,观察胃黏膜病变情况,证实CAG造模成功.Si等^[42]对用不同药物、不同时间建造SD大鼠CAG模型进行比较,其中使用0.05%-0.10%氨水、20 mmol/L去氧胆酸钠、0.05%吡啶美辛及600 mL/L乙醇的造模方法持续6及9 mo均成功造模,且6及9 mo所造模型病理改变无明显差别。

2.6 CAG其他造模法 除以上方法外还有免疫造模法,但单纯免疫法造模稳定性比较差,技术成本较高,推广比较困难^[23].另外,使用手术方法模拟胆汁反流刺激实验动物胃黏膜虽然能成功复制CAG动物模型,如幽门弹簧插入法^[43]、胃肠吻合术^[44],但操作复杂,实验条件苛刻,而且大多数模型不够稳定^[33]。

3 中医病证结合造模方法

陆为民等^[45]探讨了CAG癌前病变气虚血瘀证动物模型的研制方法,并取得成功.方法如下:将25只♂ Wistar大鼠随机分为正常组与造模组,造模组采用MNNG溶液自由饮用,雷尼替丁灌胃及饥饱失常的综合方法造模20 wk,观察2组大鼠全身状况、血液红细胞免疫功能、LPO、SOD、GSH-Px、TXB₂、6-keto-PGF₁α、TXB₂/6-keto-PGF₁α及胃黏膜病理等变化.实验结果显示造模成功,而这些指标均间接反映了大鼠气虚血瘀证的存在。

陈小野等^[46]采用脱氧胆酸钠和阿司匹林水溶液交替饮用加免疫损伤法建造CAG模型,脾虚证模型采用耗气破气加饥饱失常法,肝郁证模型采用夹尾加肾上腺素注射法,肾虚证模型

采用甲基硫氧嘧啶溶液饮用法.造模周期35 wk.结果:CAG模型各组胃黏膜有明显的萎缩性改变,且本实验各模型符合目前相应证、病和证病结合模型的一般标准并有所改进。

“证”是中医诊治疾病的核心,证候研究是中医基础研究的关键问题^[47].病证结合是中西医两种医学体系交叉融合的切入点,建立病证结合动物模型是中西医结合医学取得突破性进展的关键^[48,49].证病结合模型依据辨证和辨病相结合的特点,在同一个体上同时复制疾病和证候,这类以病证、病证合参的动物模型是比较理想的动物模型^[50].张晓冬等^[51]认为病证结合动物模型由于融合了中医证候模型和现代医学病理学模型两方面共同的因素和特点,使模型动物同时具有西医疾病和中医证候特征,并提出了研制动物模型的思路:多因素复合制作病证结合动物模型与对西医疾病模型进行辨证以建立病证结合模型.“病证结合”动物模型将有助于中药药理学研究和中药药效的评价,有利于更全面、客观地认识中药的科学内涵,对于探讨疾病病理生理变化与中医证候特征之间的关系,更是显示出较大的优势;同时“病证结合”动物模型还存在需要探讨的问题,如生物意义上相同指标的转换问题等^[52]。

4 结论

近年来科研工作者们都致力于模仿人类的CAG病因来复制动物模型,但始终还是存在一定差距及需要解决的问题.化学诱变剂法和多因素复合刺激胃黏膜法作为目前使用较多的动物造模方法,成功率也较高,但仍然存在实验动物的选择、药物的组合及剂量的大小、造模时间的长短没有统一标准等诸多问题,且缺乏自发性动物模型的研究.中医对CAG的治疗主要是辨证施治,而不像西医按照疾病的分类笼统地治疗,故复制出病证结合的实验动物模型来进行中医基础与临床研究是较为理想的研究方式,然而也存在一些问题,例如缺乏公认的造模方法及客观的评价指标等.另外,运用分子生物学技术或建立转基因动物模型等使CAG模型研究进一步深入也是值得探讨的问题.因此,还要继续完善CAG动物模型,探索最佳的造模方式。

总之,CAG作为胃癌癌前疾病,是非常值得临床及科研工作者深入研究的,而建造具有稳定、便捷、成功率高等优点的动物模型是其基础,也是桥梁.以上造模方法均模拟目前公认的

CAG病因, 如能进一步从细胞、分子等水平研究这些病因的致病机制, 建立新型动物模型等, 则能为临床预防、诊断和治疗CAG, 降低胃癌发病率及死亡率作出更大贡献。

5 参考文献

- 1 杨玲, 李连弟, 陈育德, D.M.Parkin. 中国2000年及2005年恶性肿瘤发病死亡的估计与预测. 中国卫生统计 2005; 22: 218-221, 231
- 2 Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60 [PMID: 49653 DOI: 10.1016/S0140-6736(75)90498-5]
- 3 Compare D, Rocco A, Nardone G. Risk factors in gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 302-308 [PMID: 20496539]
- 4 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
- 5 魏睦新, 胡平. 消化病中西医结合基础研究评述. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2545-2549
- 6 朱莹莹, 史淋峰, 吴旭彤, 王海丹. 实验性慢性萎缩性胃炎脾虚证模型的建立及不同时期病理形态学的改变. 中华中医药学刊 2012; 30: 231-233, 449-450
- 7 劳绍贤, 陈更新. 胃癌癌前病变的中医研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1117-1120
- 8 Oda T, Murakami K, Nishizono A, Kodama M, Nasu M, Fujioka T. Long-term *Helicobacter pylori* infection in Japanese monkeys induces atrophic gastritis and accumulation of mutations in the p53 tumor suppressor gene. *Helicobacter* 2002; 7: 143-151 [PMID: 12047319 DOI: 10.1046/j.1523-5378.2002.00074.x]
- 9 万继英, 韩庶勇. 肿瘤实验动物模型的建立及应用研究进展. 医学综述 2009; 15: 2959-2961
- 10 Peraino C, Staffeldt EF, Carnes BA, Ludeman VA, Blomquist JA, Vesselinovitch SD. Characterization of histochemically detectable altered hepatocyte foci and their relationship to hepatic tumorigenesis in rats treated once with diethylnitrosamine or benzo(a)pyrene within one day after birth. *Cancer Res* 1984; 44: 3340-3347 [PMID: 6331643]
- 11 Mitaka T, Tsukada H. Sexual difference in the histochemical characteristics of "altered cell foci" in the liver of aged Fischer 344 rats. *Jpn J Cancer Res* 1987; 78: 785-790 [PMID: 2888743]
- 12 Hagiwara T, Mukaisho K, Nakayama T, Sugihara H, Hattori T. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. *Gut* 2011; 60: 624-630 [PMID: 21097844 DOI: 10.1136/gut.2010.207662]
- 13 Bergin IL, Sheppard BJ, Fox JG. *Helicobacter pylori* infection and high dietary salt independently induce atrophic gastritis and intestinal metaplasia in commercially available outbred Mongolian gerbils. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 475-485 [PMID: 12757158 DOI: 10.1023/A:1022524313355]
- 14 Jin Z, Hu FL, Wei H, Tang XY, Dong Y. [Establishment of Mongolian gerbil model of long-term *Helicobacter pylori* infection]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 1518-1522 [PMID: 18956630]
- 15 Schubert TT, Bologna SD, Nenseny Y, Schubert AB, Mascha EJ, Ma CK. Ulcer risk factors: interactions between *Helicobacter pylori* infection, nonsteroidal use, and age. *Am J Med* 1993; 94: 413-418 [PMID: 8475935 DOI: 10.1016/0002-9343(93)90153-G]
- 16 Maaroos HI, Kekki M, Vorobjova T, Salupere V, Sipponen P. Risk of recurrence of gastric ulcer, chronic gastritis, and grade of *Helicobacter pylori* colonization. A long-term follow-up study of 25 patients. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 532-536 [PMID: 8079112 DOI: 10.3109/00365529409092468]
- 17 Kuipers EJ, Ytterlinde AM, Peña AS, Roosendaal R, Pals G, Nelis GF, Festen HP, Meuwissen SG. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *Lancet* 1995; 345: 1525-1528 [PMID: 7791437 DOI: 10.1016/S0140-6736(95)91084-0]
- 18 Sakaki N, Momma K, Egawa N, Yamada Y, Kan T, Ishiwata J. The influence of *Helicobacter pylori* infection on the progression of gastric mucosal atrophy and occurrence of gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: S59-S62 [PMID: 8574738]
- 19 Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, Sitas F. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991; 302: 1302-1305 [PMID: 2059685 DOI: 10.1136/bmj.302.6788.1302]
- 20 Walecka-Kapica E, Knopik-Dabrowicz A, Klupińska G, Chojnacki J. [The assessment of nitric oxide metabolites in gastric juice in *Helicobacter pylori* infected subjects in compliance with grade of inflammatory lesions in gastric mucosa]. *Pol Merkuri Lekarski* 2008; 24: 95-100 [PMID: 18634262]
- 21 Bhandari A, Crowe SE. *Helicobacter pylori* in gastric malignancies. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 489-496 [PMID: 23054813 DOI: 10.1007/s11894-012-0296-y]
- 22 Sonnenberg A, Genta RM. *Helicobacter pylori* is a risk factor for colonic neoplasms. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 208-215 [PMID: 23208272 DOI: 10.1038/ajg.2012.407]
- 23 张国梁, 李艳. 慢性萎缩性胃炎动物模型研究进展. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 567-570
- 24 Nagahara A, Watanabe S, Miwa H, Endo K, Hirose M, Sato N. Reduction of gap junction protein connexin 32 in rat atrophic gastric mucosa as an early event in carcinogenesis. *J Gastroenterol* 1996; 31: 491-497 [PMID: 8844468]
- 25 Miwa H, Endo K, Wada R, Hirai S, Hirose M, Misawa H, Nagahara A, Ohta K, Watanabe S, Sato N. Cellular proliferation and differentiation in rat atrophic gastric mucosa induced by N'-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25 Suppl 1: S116-S121 [PMID: 9479637]
- 26 袁孝兵. 大鼠胃癌前病变模型的研究进展. 安徽医学院学报 2004; 23: 62-64
- 27 魏玥, 杨晋翔, 李志钢, 孟捷, 韩海啸, 彭继升. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍胃癌前病变大鼠造模联合因素的探讨. 中国中西医结合消化杂志 2011; 19: 111-112
- 28 何晓晖, 陈文, 陈建章, 王小平, 刘良福, 徐泽宇. 双蒲散治疗大鼠慢性萎缩性胃炎的实验研究. 上海中医药杂志 2008; 42: 66-68
- 29 戴关海, 童晔玲, 张丽, 杨敏, 陆拯, 杨锋. 胃乐煎对慢性萎缩性胃炎模型大鼠作用的实验研究. 中国现代应用药学 2013; 30: 15-20
- 30 李红平, 毛万姬, 邹学正. 丹白麦门冬汤对慢性萎缩性胃炎大鼠胃粘膜病理形态学的影响. 陕西中医 2007; 28: 243-245
- 31 Shao XH, Yang YP, Dai J, Wu JF, Bo AH. Effects of He-Ne laser irradiation on chronic atrophic gastri-

■应用要点

成功建造慢性萎缩性胃炎动物模型是对其进行相关研究的重要基础与桥梁, 可以为相关领域的研究者选择造模方法提供参考及启发新的思路。

■同行评价

本文综述慢性萎缩性胃炎动物模型的方法,包括中医基础与临床研究用的动物模型,资料较丰富。

- 32 Wu Y, Fan Y, Jiang Y, Wang Y, Liu H, Wei M. Analysis of risk factors associated with precancerous lesion of gastric cancer in patients from eastern China: A comparative study. *J Cancer Res Ther* 2013; 9: 205-209 [PMID: 23771359 DOI: 10.4103/0973-1482.113351]
- 33 张小丽, 王斌, 张涛. 慢性萎缩性胃炎实验动物模型研究方法. *中国中西医结合消化杂志* 2005; 13: 414-416
- 34 黄妙珍, 陈芝芸, 严茂祥, 项柏康. 补气养阴解毒法对慢性萎缩性胃炎模型大鼠生长抑素和生长激素的影响. *中医杂志* 2003; 44: 857-859
- 35 Liu WL, Chen SJ, Chen Y, Sun LM, Zhang W, Zeng YM, Zhou TH, Si JM. Protective effects of heat shock protein70 induced by geranylgeranylacetone in atrophic gastritis in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 1001-1006 [PMID: 17588336 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00589.x]
- 36 张莲, 周语平, 刘光伟. 黄芪皂苷对大鼠萎缩性胃炎的治疗作用及对MyD88, TLR4受体的影响. *中国实验方剂学杂志* 2013; 19: 226-229
- 37 Wang LJ, Chen SJ, Chen Z, Cai JT, Si JM. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats. *J Zhejiang Univ Sci B* 2006; 7: 634-640 [PMID: 16845717 DOI: 10.1631/jzus.2006.B0634]
- 38 龚占悦, 吴茜茜, 刘红静. 益胃消增胶囊对慢性萎缩性胃炎大鼠胃泌素生长抑素的影响. *辽宁中医药大学学报* 2008; 10: 141-143
- 39 舒劲, 李喜香, 任远, 李生财, 吴国泰, 洪秋菊. 制萎扶胃浓缩丸对慢性萎缩性胃炎模型大鼠SOD活性、MDA和NO含量的影响. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 160-162
- 40 冯秀雪, 令狐恩强. 慢性萎缩性胃炎的动物模型研究. *军医进修学院学报* 2012; 33: 668-671
- 41 王常松, 王启国, 俞洁, 闵莉, 吴银盘. 从虚郁毒瘀立法组方对萎缩性胃炎胃黏膜细胞COX-2mRNA表达的影响. *中华中医药学刊* 2013; 31: 106-108
- 42 Si J, Zhou W, Wu J, Cao Q, Xiang Z, Jiang L, Lü W, Huang H. Establishment of an animal model of chronic atrophic gastritis and a study on the factors inducing atrophy. *Chin Med J (Engl)* 2001; 114: 1323-1325 [PMID: 11793864]
- 43 Zang YL, Li JX, Zhu LQ. [Effect of three TCM methods for activating blood circulation on early stage apoptosis in rats with chronic atrophic gastritis complicated precancerous lesion]. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi* 2008; 28: 448-450 [PMID: 18672775]
- 44 杨鸿, 侯家玉. 胆汁反流致慢性萎缩性胃炎的实验研究. *北京中医药大学学报* 2001; 24: 26-29
- 45 陆为民, 单兆伟, 吴静, 沈洪, 张健宁, 朱云华, 朱长乐. 大鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变气虚血瘀证动物模型的研制. *南京中医药大学学报(自然科学版)* 2000; 16: 156-158
- 46 陈小野, 邹世洁, 佟彤, 樊雅莉, 张宇鹏. 大鼠CAG证病结合模型胃粘膜病理研究. *中医药学刊* 2001; 18: 292-295
- 47 徐雯洁, 李萍, 刘卫红, 张会娜. 证候规范化研究的思路和方法探讨. *北京中医药* 2010; 29: 343-346
- 48 Lu AP, Chen KJ. Integrative medicine in clinical practice: from pattern differentiation in traditional Chinese medicine to disease treatment. *Chin J Integr Med* 2009; 15: 152 [PMID: 19407956 DOI: 10.1007/s11655-009-0152-6]
- 49 刘平, 季光, 陈凯先. 病证结合与中西医结合医学学科知识理论体系的构建. *中国中西医结合杂志* 2010; 30: 566-570
- 50 张慧, 杨卫彬, 王丽颖, 荆志伟, 武红莉. 证候研究中动物模型的应用新进展. *时珍国医国药* 2011; 22: 1478-1479
- 51 张晓东, 潘国凤. 病证结合模式评价中药临床前有效性探讨. *中华中医药学刊* 2007; 25: 2144-2146
- 52 纪冬琛, 李昌煜. 病证结合动物模型的制作、评价与展望. *浙江中医药大学学报* 2010; 34: 615-618

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊(A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

新疆哈萨克族胃癌中*Smad4*基因启动子的甲基化状态

刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇

刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 郑勇, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832000

马聪, 新疆伊犁州友谊医院 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000

窦玉琴, 新疆生产建设兵团农四师医院 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000

刘玺, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究。

石河子大学医学院基础与临床医学联合科研基金资助项目, No. LHJJ2010BO4; 十一五国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2009BAI82B05

作者贡献分布: 此课题由郑勇、陈卫刚、李睿及刘芳设计; 研究过程由刘玺、刘晓燕及康雪操作完成; 研究所用部分标本由马聪与窦玉琴提供; 数据分析由刘玺完成; 本论文写作由刘玺与郑勇完成。

通讯作者: 郑勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 国务院“政府特殊津贴”专家, 国家科技支撑计划项目首席科学家, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路32小区, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。55487726@qq.com

收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-05-08

接受日期: 2013-07-01 在线出版日期: 2013-07-18

DNA methylation of *Smad4* promoter in gastric cancer in Xinjiang Kazak patients

Xi Liu, Wei-Gang Chen, Rui Li, Fang Liu, Xiao-Yan Liu, Xue Kang, Cong Ma, Yu-Qin Dou, Yong Zheng

Xi Liu, Wei-Gang Chen, Rui Li, Fang Liu, Xiao-Yan Liu, Xue Kang, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Cong Ma, Friendship Hospital of Yili, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yu-Qin Dou, the Fourth Hospital of Xinjiang Production and Construction Corps, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Joint Basic and Clinical Medicine Research Fund of Shihezi University School of Medicine, No. LHJJ2010BO4; the National Science and Technology Support Program during the Eleventh “Five-year Plan” Period, No. 2009BAI82B05

Correspondence to: Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, 32 Xiaoku Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 55487726@qq.com

Received: 2013-01-06 Revised: 2013-05-08

Accepted: 2013-07-01 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To determine the relationship between methylation of the *Smad4* promoter and the incidence of gastric cancer (GC) in Kazakh Chinese in

Xinjiang Uygur Autonomous Region of China.

METHODS: Thirty patients with gastric cancer and 30 normal individuals were recruited from Kazak Autonomous Prefecture, an area with a high prevalence of gastric cancer. MassARRAY was used to detect *Smad4* promoter methylation in samples taken from both GC patients and healthy controls.

RESULTS: The mean CpG methylation rate in GC was higher than that in normal gastric tissue (26.5% vs 21.7%). The mean methylation rates in CpG 3-4 and CpG 10-11 in GC were significantly higher than those in normal controls (19.1% vs 10.9%; 20.3% vs 11.5%, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The *Smad4* promoter methylation status is correlated with the presence of GC in Kazakh Chinese. Changes in the methylation of CpG 3-4 and/or CpG 10-11 of the *Smad4* gene may lead to the development of GC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; *Smad4* gene; Methylation; Kazakh patients; MassARRAY

Liu X, Chen WG, Li R, Liu F, Liu XY, Kang X, Ma C, Dou YQ, Zheng Y. DNA methylation of *Smad4* promoter in gastric cancer in Xinjiang Kazak patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1907-1913 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1907>

摘要

目的: 探讨*Smad4*基因启动子甲基化在新疆哈萨克族胃癌发病中的作用。

方法: 收集新疆哈萨克族胃癌组织30例及哈萨克族正常胃黏膜组织30例作为研究对象, 哈萨克族胃癌及哈萨克族正常胃黏膜组织均取自新疆新源县哈萨克族胃癌研究现场。运用MassARRAY技术平台检测*Smad4*基因启动子的甲基化状态。

结果: (1)哈萨克族胃癌组与对照组中*Smad4*基因启

■背景资料

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 据世界卫生组织公布的报告, 世界胃癌年发病率为13.86/10万例。我国每年胃癌患者数占全球胃癌发病总人数的1/3以上, 是胃癌的高发区, 且胃癌年患病率和死亡率均高出世界平均水平2倍多。目前我国胃癌死亡率为24.71/10万, 居各类癌症死亡率的第1位。资料显示, 在我国少数民族中, 哈萨克族胃癌死亡率居第1位; 另据最新流行病学研究调查结果显示, 在新疆哈萨克族人群中胃癌死亡率为41.3/10万, 高于我国胃癌死亡率的平均水平, 同时也高于同地区汉族和维吾尔族胃癌死亡率(18.5/10万, 14.2/10万), 居新疆少数民族之首。

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

■ 研发前沿

近年来,随着甲基化研究水平的提高和技术的快速发展,已经有一些高通量、快速检测基因单个或者多个CpG位点的技术,方便研究出甲基化导致基因沉默的机制,其中一个技术是基质辅助激光解吸电离时间飞行质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS).此方法已经成为国内外检测基因甲基化的金标准。

动子的CpG单位平均甲基化率分别为26.5%和21.7%,哈族胃癌组*Smad4*基因启动子平均甲基化率要明显高于哈族正常组;(2)*Smad4*基因在哈族胃癌中CpG单位3-4与CpG单位10-11平均甲基化水平分别为19.1%和20.3%,两者的平均甲基化水平明显高于正常对照的10.9%和11.5%,两者的平均甲基化率在哈族癌组和对照组中有显著差异($P<0.05$)。

结论: (1)哈萨克族胃癌的发生可能与*Smad4*基因启动子区的甲基化状态有关;(2)*Smad4*基因启动子区CpG单位3-4与CpG单位10-11这两个CpG单位甲基化状态的改变可能导致胃癌的发生。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃癌; *Smad4*基因; 甲基化; 哈萨克族; MassARRAY

核心提示: 哈族胃癌组和哈族正常胃黏膜组中*Smad4*基因启动子区均发生不同程度的甲基化,且该基因的12个CpG单位的平均甲基化率哈族胃癌组高于正常对照组,表明*Smad4*基因启动子区发生甲基化可能是导致新疆哈萨克族胃癌中*Smad4*蛋白表达下降的主要机制。

刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇. 新疆哈萨克族胃癌中*Smad4*基因启动子的甲基化状态. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1907-1913 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1907>

0 引言

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,据世界卫生组织公布的报告,世界胃癌年发病率为13.86/10万例。我国每年胃癌发患者数占全球胃癌发病总人数的1/3以上,是胃癌的高发区,且胃癌年患病率和死亡率均高出世界平均水平2倍多。目前我国胃癌死亡率为24.71/10万,居各类癌症死亡率的第1位^[1]。资料显示,在我国少数民族中,哈萨克族胃癌死亡率居第1位;另据最新流行病学研究调查结果显示,在新疆哈萨克族人群中胃癌死亡率为41.3/10万,高于我国胃癌死亡率的平均水平,同时也高于同地区汉族和维吾尔族胃癌死亡率(18.5/10万,14.2/10万),居新疆少数民族之首。转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)/*Smad*信号通路是目前热点研究,研究表明TGF- β /*Smad*信号通路中*Smad4*基因甲基化与多种肿瘤

的发生、发展有关,如:胰腺癌^[2]、结直肠癌^[3]、胃癌^[4-6]、宫颈癌^[7]、肝癌等^[8],*Smad4*基因作为TGF- β 信号传导系统的重要中间环节,对其信号传导具有重要影响^[9]。目前的研究表明*Smad4*基因异常甲基化在胃癌中较常见,*Smad4*甲基化可能是一个早期胃癌检测的良好分子生物学指标^[10]。然而,目前关于新疆哈萨克族胃癌高发与该基因启动子区甲基化的关系知之尚少,也未见与哈族胃癌相关的*Smad4*甲基化位点的相关报道。本研究为进一步探讨新疆哈萨克族胃癌高发的原因,有效开展胃癌的早期防治工作,采用新疆哈萨克族自治州新源县胃癌研究现场经内窥镜收集的胃黏膜标本,首次应用MassARRAY方法研究*Smad4*基因启动子区甲基化状态与新疆哈萨克族胃癌的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 哈萨克族胃癌及哈萨克族正常胃黏膜组织均取自新疆新源县哈萨克族胃癌研究现场,收集新疆哈萨克族胃癌组织30例及哈萨克族正常胃黏膜组织30例作为研究对象。所有病例均未作任何化学、放射治疗及手术治疗,经病理确定肿瘤标本由胃癌肿瘤组织构成,正常组织没有肿瘤细胞浸润。病理确定后标本即冷冻于液氮之中,并保存在-80℃条件下备用。以上胃黏膜活检标本均征得受检者知情同意,并有相应的病理和临床资料。DNA提取试剂盒:QIAamp DNA Mini Kit试剂盒购自QIAGEN公司;GelDoc凝胶成像分析仪(Bio-Rad, 美国);分光光度计、自亚硫酸盐修饰至质谱分析均委托北京博奥生物公司完成。

1.2 方法

1.2.1 组织DNA的提取及质检: 提取DNA在新疆地方病重点实验室完成,共收集约50 μ L DNA溶液,所有DNA应用分光光度计进行质检,以浓度高于75 ng/ μ L,总量高于1 μ g,电泳主带明显没有降解, $A_{260/280} = 1.7-2.1$ 的样品为合格样品。本实验所有样本均合格。提取的DNA置于-20℃冰箱保存备用。

1.2.2 样品亚硫酸盐处理、引物及甲基化分析: 采用QIAGEN生产的EpiTect Bisulfite Kit试剂盒。完善实验前的准备工作,进行样品处理。引物序列包含33个CpG位点,引物序列扩增长度见表1。

1.2.3 样本处理、芯片点样及质谱检测: 应用MassCLEAVE Kit试剂盒进行碱性磷酸酶处理,然后应用Spectro CHIP® Arrays and Clean Resin

表 1 *Smad4*甲基化引物序列

基因	引物序列	扩增片段长度
<i>SMAD4</i> -F	aggaagagagAGTTTAGGGGAGAGTAGGAAGGGT	320 bp
<i>SMAD4</i> -R	cagtaatacgaactcactataggagaaggctAAACCCAAATCCAAATTCAAAAC	

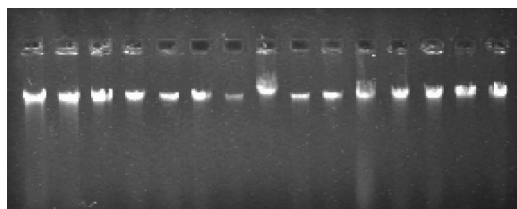


图 1 提取DNA电泳图.

Kit试剂盒进行纯化, 使用MassARRAY Nanodispenser RS1000点样仪(SEQUENOM)将纯化后产物点至384孔SpectroCHIP(SEQUENOM)芯片上, 将点制好的芯片放入MassARRAY Compact System(SEQUENOM)进行检测. SpectroCHIP芯片使用MALDI-TOF技术, 检测数据通过EpiTYPER软件(SEQUENOM)分析并输出结果.

统计学处理 检测数据通过EpiTYPER软件(SEQUENOM)分析并输出结果, 使用SPSS13.0软件进行数据处理, 统计学方法采用Wilcoxon秩和检验及 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *Smad4*基因DNA的提取及在哈族胃癌及正常对照中的甲基化情况 本研究采用的是1:1病例对照研究, 共收集新疆伊犁哈萨克自治州新源县当地长期居住的哈族胃癌组织30例及同地区正常胃黏膜组织30例. 提取DNA电泳情况见图1. 本实验60例样本, 甲基化检测实验结果显示在哈族胃癌组织与哈族正常胃黏膜组织对照中*Smad4*基因启动子CpG单位平均甲基化水平分别为26.5%和21.7%, 哈族癌组*Smad4*基因启动子CpG单位平均甲基化率明显高于对照族(表2).

2.2 应用两独立样本比较的Wilcoxon秩和检验检测*Smad4*启动子19个CpG单位甲基化情况 应用Wilcoxon秩和检验对胃癌组和正常对照组*Smad4*启动子区甲基化的状态进行比较, 我们发现胃癌组*Smad4*基因启动子区CpG单位3-4与CpG单位10-11这两个位点的甲基化率均高于正常对照组, 这两个CpG单位平均甲基化水平在胃癌组分别为19.1%和20.3%, 在正常对照组分别为10.9%和11.5%; 癌组中CpG单位3-4与CpG单

位10-11的平均甲基化水平明显高于对照组, 具有显著差异, 有统计学意义($P<0.05$)(表3).

3 讨论

胃癌位居中国癌症死亡率第3位^[11], 且恶性程度很高. 研究显示自1987-2009年中国胃癌的发病率呈下降趋势^[12-15], 据2008年全球癌症报告^[16](GLOBOCAN2008)的统计2008年约有989000患者新患胃癌, 中国为463000例, 占46.8%. 同期全球死于胃癌的病例共737000例, 中国为352000例, 占47.8%, 且全球不同地区人群以及不同种族胃癌的发病率也不同. 据研究显示胃癌发病率男性高于女性约2倍以上^[17]. 在中国新疆维吾尔自治区, 居住13种少数民族包括汉族、维吾尔族、哈萨克族、塔吉克族、回族、乌兹别克、柯尔克孜族、满族、蒙古族、锡伯族、俄罗斯族等, 自古长期居住新疆的民族主要是维吾尔族、哈萨克族, 人口数分别为800万、200万. 虽然他们均信仰伊斯兰教、生活方式相似, 但是, 其胃癌的发病率相差很大, 新疆哈萨克族胃癌的发病率最高, 死亡率达41.3/100000, 显著高于维吾尔族(14.2/100000). 目前资料显示哈萨克族胃癌的发病率仅次于哈萨克族食管癌的发病率, 居哈萨克族肿瘤发病的第2位. 河南林县地区是我国食管癌高发区, 最新研究显示: 河南林县胃癌的发病率实质上高于食管癌发病率, 其原因是既往将食管-胃交界癌划分为食管癌造成. 研究显示: 从20世纪80年代后期胃癌的发病率已经超过了食管癌, 而食管-胃交界癌占胃癌比例的54.7%^[18]. 目前哈萨克族恶性肿瘤第1位是食管鳞癌, 第2位是胃癌, 但未指出胃癌的亚部位. 因此, 有关在新疆哈萨克族食管癌发病率居新疆少数民族肿瘤发病率第1位结论也值得商榷. 目前胃癌的发病机制及分子学机制尚不明确. 近年来, 很多研究集中在信号系统中基因甲基化导致肿瘤的表现遗传学改变, 抑癌基因启动子区CpG岛的异常甲基化导致其功能失活是参与肿瘤发生的重要机制之一, 而*Smad4*基因作为抑癌基因, 是TGF- β 信号传导系统的关键组成原件, 对其信号传导具有关键作用^[19], 其甲基化

■ 相关报道

近年来, 很多研究集中在信号系统中基因甲基化导致肿瘤的表现遗传学改变. 抑癌基因启动子区CpG岛的异常甲基化导致其功能失活是参与肿瘤发生的重要机制之一, 而*Smad4*基因作为抑癌基因, 是转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)信号传导系统的关键组成原件, 对其信号传导具有关键作用, 其甲基化与多种肿瘤的关系已经成为近年的研究热点. 郭炜等研究表明*Smad4*基因高甲基化与胃癌相关.

■创新盘点

新疆哈萨克族是一个存在特殊生活习惯、遗传学背景、种族差异的民族,目前尚无应用高通量方法MALDI-TOF MS研究*Smad4*基因启动子区甲基化与新疆哈萨克族胃癌发生关系的报道,也无新疆哈萨克族胃癌发生过程中相关的*Smad4*基因高频特异性甲基化位点的相关报道。

表 2 哈萨克族胃癌和哈萨克族正常组织12组*Smad4*基因CpG片段的甲基化率

分组	CpG片段	哈萨克族胃癌组	哈萨克族正常组
1	Smad4-1_2_CpG_1	0.01030303	0.00378378
2	Smad4-1_2_CpG_3.4	0.01918919	0.01090909
3	Smad4-1_2_CpG_6	0.01181818	0.01594595
4	Smad4-1_2_CpG_7.8	0.03333333	0.01945946
5	Smad4-1_2_CpG_10.11	0.02033748	0.01152850
6	Smad4-1_2_CpG_14	0.07181818	0.06729730
7	Smad4-1_2_CpG_15	0.01939394	0.02594595
8	Smad4-1_2_CpG_16.17.18.19	0.02696970	0.02648649
9	Smad4-1_2_CpG_20	0.00878788	0.00513514
10	Smad4-1_2_CpG_27.28	0.03606061	0.02702703
11	Smad4-1_2_CpG_29	0.00878788	0.00513514
12	Smad4-1_2_CpG_31.32.33	0.05121212	0.04216216
总甲基化率(%)		0.31801152	0.26081599
平均甲基化率(%)		0.02650096	0.02173467

表 3 胃癌组织和正常组织的12个*Smad4*基因CpG片段的Wilcoxon W秩和检验值

序号	基因片段	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	P值
1	Smad4-1_2_CpG_1	548.000	1251.000	0.317
2	Smad4-1_2_CpG_3.4	438.500	999.500	0.035
3	Smad4-1_2_CpG_6	544.000	1247.000	0.410
4	Smad4-1_2_CpG_7.8	487.000	1190.000	0.139
5	Smad4-1_2_CpG_10.11	438.500	999.500	0.035
6	Smad4-1_2_CpG_14	548.000	1251.000	0.452
7	Smad4-1_2_CpG_15	480.500	1041.500	0.118
8	Smad4-1_2_CpG_16.17.18.19	598.000	1159.000	0.881
9	Smad4-1_2_CpG_20	501.500	1204.500	0.158
10	Smad4-1_2_CpG_27.28	497.500	1200.500	0.175
11	Smad4-1_2_CpG_29	501.500	1204.500	0.158
12	Smad4-1_2_CpG_31.32.33	504.000	1207.000	0.198

与多种肿瘤的关系已经成为近年的研究热点。*Smad4*基因甲基化指在DNAC5胞嘧啶甲基转移酶(DNA methyltransferase, Dnmt)的催化作用下,以S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,在胞嘧啶第五位碳原子上加一甲基基团。有研究^[20]表明甲基化对基因表达的抑制机制分为两种方式:直接方式为基因启动子区CpG岛甲基化会影响到转录激活因子和其识别序列的结合,从而直接抑制基因的正常表达;间接方式是甲基结合蛋白家族可以识别甲基化的CpG双核苷酸序列,而甲基结合蛋白家族可通过补充组蛋白甲基化转移酶和组蛋白去乙酰化酶等组蛋白修饰蛋白质来改变染色质的活性,从而间接影响基因的正常表达。近年研究表明,DNA甲基化和组蛋白的化学修饰,如磷酸化、

乙酰化、甲基化、ADP核糖基化等相互作用,共同调节基因的转录^[21]。还有研究证实DNA甲基化可直接影响基因组甲基化状态和组蛋白乙酰化。近年来研究显示DNA甲基化和组蛋白修饰是可逆的调节过程^[22],因此,抑制DNA甲基转移酶的性能已成为研究抗肿瘤作用的新方法。

虽然对*Smad4*基因甲基化生物学意义的认识已长达半个世纪,但是,近几年针对DNA甲基化检测方法的研究才得以重视。早期的甲基化分析技术,如免疫学抗体等技术、氯乙醛反应法及*Sss* I 甲基转移酶分析法^[23],不能满足目前研究肿瘤表观遗传学的需要。近几年研究表明*Smad4*基因甲基化的分析有基因组的甲基化分析方法和特定DNA片段甲基化的检测方法。MSP(methylation specific PCR)法是近几年国内

外学者最常用的经典方法,检测*Smad4*甲基化最常用的方法是MSP法,MSP是Dobaczewski等^[9]首先提出的一种检测基因甲基化的经典方法.MSP法原理^[9,19]是先使用亚硫酸氢钠试剂修饰处理基因组DNA,未发生甲基化的C(胞嘧啶)会被转化为U(尿嘧啶),发生甲基化的C不改变.再分别针对非甲基化和甲基化序列设计包含多个CpG位点的引物,再用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增,最后应用琼脂糖凝胶电泳进行分析,确定与引物互补的DNA序列的甲基化状态.Wang等^[6]在研究*Smad4*基因甲基化与胃癌相关性研究时应用MSP法,该方法的优点是避免了原来由限制性内切酶区分甲基化和非甲基化的DNA的PCR方法所引起的假阳性,并且灵敏度较高,应用范围广.然而不足之处是,修饰后的样本DNA应在尽可能短的时间进行PCR扩增,以防样本DNA降解而使扩增效率降低,而且此法对引物要求非常重要,引物所包含的CpG位点有限,只能做定性检测,修饰处理过程不完全,容易引起假阳性.

随着科学发展,许多问题有待进一步解决,例如:不同肿瘤是否存在其特异的甲基化位点,是否可以通过微量标本方便、快捷的检测甲基化状态等.MALDI-TOF质谱技术应运而生,该技术不仅可以应用于定量甲基化检测,还可以应用于DNA、蛋白、组织等不同平台分析,而且可以在患者外周血、尿、唾液,甚至微创样品中检测甲基化状态.MALDI-TOF MS的优点:(1)高通量、快速、简单和一次可以检测多个CpG位点;(2)可以通过EpiTYPER软件快速的计算出每个甲基化位点的甲基化率,是一种定量检测甲基化的方法;(3)该方法可在DNA水平及蛋白质水平研究肿瘤的发生规律,并且可在患者外周血、尿、痰、唾液、乳头分泌液、脑脊髓液等微创或微创样品中寻找肿瘤特异分子标志已经成为研究热点^[24-28].缺点:(1)实验结果与所设计引物包含CpG岛数量有关;(2)成本较高,要想检测*Smad4*基因的所有位点就需要多对引物,多个反应体系.所以一般就用来检测富含CpG岛较高的区域,例如*Smad4*基因的启动子区.另外,MALDI-TOF质谱技术是一种无标记的检测方法,既能减少检测成本,又具有高通量和高灵敏度的检测能力,因此该方法是肿瘤标志物应用于临床的理想平台,在肿瘤早期筛查,早期诊断和个体化诊治等多个领域中必将发挥重要作用.本课题组前期针对*Smad4*基因的表达产物

*Smad4*蛋白进行研究,发现癌族*Smad4*蛋白表达明显低于正常对照组,该蛋白的下降可能由于*Smad4*基因表达失调所导致,相关报道表明基因甲基化是导致*Smad4*蛋白表达量下降的主要原因^[29].由于*Smad4*基因的甲基化主要位于启动子区,因此近年来设计引物及检测*Smad4*基因甲基化的主要位点是其启动子区.至今尚未见到*Smad4*基因启动子区甲基化与新疆哈萨克族胃癌的相关报道.因此,本次研究针对*Smad4*基因的表达,我们采用MassARRAY技术平台检测了新疆哈萨克族胃癌组织和正常对照组织中甲基化的状态,期望发现与新疆哈萨克族胃癌相关的CpG位点.

本文应用MassARRAY技术平台检测了*Smad4*基因启动子区的19个CpG单位,其中CpG_2, CpG_5, CpG_9, CpG_12.13, CpG_21.22.23, CpG_24.25.26和CpG_30单位未被检测到,考虑可能与这7个单位分子量过小或者与下个CpG单位聚集较近所致.因此,本实验检测了该基因的12个CpG单位,通过分析显示*Smad4*基因在胃癌中的甲基化率明显高于对照组,初步提示*Smad4*基因高甲基化可能与新疆哈萨克族胃癌发生相关,这与国内外关于*Smad4*基因甲基化与胃癌发生相关的研究结果相似.相比国内外定性检测*Smad4*基因甲基化率与胃癌的关系,本次实验还发现在CpG3-4与CpG10-11单位上胃癌组甲基化率分别为19.1%、20.3%明显高于正常对照组10.9%和11.5%,说明*Smad4*基因CpG 3-4与CpG 10-11位点的高甲基化可能与新疆哈萨克族胃癌具有相关性,其高甲基化可能导致胃癌的发生及发展.

然而,与郭炜等应用MSP法检测胃癌组中*Smad4*基因甲基化率为5.5%^[30],及国内外报道正常胃黏膜未检测到*Smad4*基因甲基化相比^[6],其研究结果与本研究不一致.首先,本研究显示在新疆哈萨克族正常胃黏膜对照组织中CpG位点存在一定的甲基化率,甲基化率相对较低,考虑可能*Smad4*基因的低甲基化与细胞的增殖及凋亡调节有关;其次,结合本实验显示的新疆哈萨克族胃癌*Smad4*基因甲基化率,相比国内外报道较高及哈萨克族胃癌发病及死亡率水平相对其他种族较高,考虑可能与种族差异及检测DNA甲基化方法不同有关.

近年来常用(methylation-specific PCR, MSP)MSP法检测肿瘤中*Smad4*基因的甲基化率,该方法灵敏度较高,应用范围广.但是,此法引物所包含的CpG位点有限,只能做定性检测,修

■应用要点

本研究拟在对新疆哈萨克族胃癌危险因素进行流行病学调查的基础上,收集新疆哈萨克族胃癌组织、同地区汉族胃癌组织以及其对照组织,运用MALDI-TOF MS方法对*Smad4*基因启动子区甲基化位点的甲基化状态进行检测,筛选出与新疆哈萨克族胃癌发生密切相关的*Smad4*基因异常甲基化的位点,初步探讨其与新疆哈萨克族胃癌的关系,并运用Western blot法检测*Smad4*蛋白的表达状态,为新疆哈萨克族胃癌高发的原因及寻找胃癌早期诊断的分子标志物提供理论依据.

同行评价

本文探讨了*Smad4*基因启动子甲基化与新疆哈萨克族胃癌的关系,对于揭示该族群胃癌高发率的分子生物学机制有一定的参考价值。

饰处理过程不完全,容易引起假阳性^[31]。相对于既往进行DNA甲基化方法,MassARRAY技术既简单又快捷。该方法的优点是高通量、快速、简单和一次可以检测多个CpG位点^[32],并且可以计算出每个甲基化位点的甲基化率,通过Epi-TYPER软件分析系统,可以直观看到每个样本中每个CpG位点甲基化率及每组数据的特点,是一种定量的检测*Smad4*甲基化的方法。

总之,正常哈族中*Smad4*基因启动子区低甲基化可能与细胞的增殖凋亡调节相关。本实验应用MassARRAY技术发现*Smad4*基因启动子区CpG 3-4与CpG 10-11位点高甲基化可能是新疆哈萨克族胃癌发生的早期事件之一,可作为胃癌的分子生物学指标之一。我国少数民族中,新疆哈萨克族胃癌死亡率居第1位,且其聚居区地处我国新疆北部,以游牧生活为主,流行病学调查存在一定难度,同时当地基层医务人员对胃癌疾病的诊断和治疗研究比较薄弱,技术相对落后,因此有关肿瘤早期诊断、流行病学研究及开展胃癌发病机制的研究就显得尤为重要。虽然我们的研究表明TGF- β /Smads信号通路中*Smad4*抑癌基因的甲基化水平较高同新疆哈萨克族胃癌的高发密切相关,但是,细胞增殖、分化及凋亡相关的信号通路及生物因子还有许多,TGF- β /Smads信号通路及其*Smad4*抑癌基因在该信号通路与其他通路交叉中,是否起主导作用,还是与其他通路及生物因子协同发挥作用,这都需要更加深入的研究。

参考文献

- 张伟东, 苗树军. 我国恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析. 中国健康教育 2009; 25: 246-248
- Zhao S, Venkatasubbarao K, Lazor JW, Sperry J, Jin C, Cao L, Freeman JW. Inhibition of STAT3 Tyr705 phosphorylation by Smad4 suppresses transforming growth factor beta-mediated invasion and metastasis in pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2008; 68: 4221-4228 [PMID: 18519681 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5123]
- Wang H, Rajan S, Liu G, Chakrabarty S. Transforming growth factor beta suppresses beta-catenin/Wnt signaling and stimulates an adhesion response in human colon carcinoma cells in a Smad4/DPC4 independent manner. *Cancer Lett* 2008; 264: 281-287 [PMID: 18367323 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.01.039]
- Barros R, Pereira B, Duluc I, Azevedo M, Mendes N, Camilo V, Jacobs RJ, Paulo P, Santos-Silva F, van Seuningen I, van den Brink GR, David L, Freund JN, Almeida R. Key elements of the BMP/SMAD pathway co-localize with CDX2 in intestinal metaplasia and regulate CDX2 expression in human gastric cell lines. *J Pathol* 2008; 215: 411-420 [PMID: 18498120 DOI: 10.1002/path.2369]
- Kundu J, Wahab SM, Kundu JK, Choi YL, Erkin OC,

- Lee HS, Park SG, Shin YK. Tob1 induces apoptosis and inhibits proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by activating Smad4 and inhibiting β -catenin signaling. *Int J Oncol* 2012; 41: 839-848 [PMID: 22710759 DOI: 10.3892/ijo.2012.1517]
- Wang LH, Kim SH, Lee JH, Choi YL, Kim YC, Park TS, Hong YC, Wu CF, Shin YK. Inactivation of SMAD4 tumor suppressor gene during gastric carcinoma progression. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 102-110 [PMID: 17200344]
- Baldus SE, Schwarz E, Lohrey C, Zapatka M, Landsberg S, Hahn SA, Schmidt D, Dienes HP, Schmiegel WH, Schwarte-Waldhoff I. Smad4 deficiency in cervical carcinoma cells. *Oncogene* 2005; 24: 810-819 [PMID: 15531914]
- Ikeguchi M, Iwamoto A, Taniguchi K, Katano K, Hirooka Y. The gene expression level of transforming growth factor-beta (TGF-beta) as a biological prognostic marker of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2005; 24: 415-421 [PMID: 16270528]
- Dobaczewski M, Chen W, Frangogiannis NG. Transforming growth factor (TGF)- β signaling in cardiac remodeling. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 51: 600-606 [PMID: 21059352 DOI: 10.1016/j.jmcc.2010.10.033]
- Guo W, Dong Z, Guo Y, Kuang G, Yang Z, Shan B. Concordant repression and aberrant methylation of transforming growth factor-beta signaling pathway genes occurs early in gastric cardia adenocarcinoma. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 9453-9462 [PMID: 22722999 DOI: 10.1007/s11033-012-1810-x]
- 张思维, 陈万青, 郑荣寿. 2003-2007年中国癌症死亡分析. 中国肿瘤 2012; 21: 171-178
- 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 10
- 邹小农, 段纪俊. 2004-2005年全国死因回顾抽样调查胃癌死亡率分析. 中华预防医学杂志 2010; 44: 390-396
- 赵平. 中国肿瘤死亡报告-全国第三次死因回顾抽样调查. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 52-62
- 赵平, 陈万青. 2010中国肿瘤登记年报. 北京: 军事医学科学出版社, 2011: 192-196
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 邹小农, 孙喜彬, 陈万青. 2003-2007年中国胃癌发病与死亡情况分析. 肿瘤 2012; 32: 109-114
- 陈志峰. WHO肿瘤新分类与食管癌高发区变化的思考. 中国肿瘤临床 2005; 32: 1201-1203
- Zhang Y, Fan KJ, Sun Q, Chen AZ, Shen WL, Zhao ZH, Zheng XF, Yang X. Functional screening for miRNAs targeting Smad4 identified miR-199a as a negative regulator of TGF- β signalling pathway. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 9286-9297 [PMID: 22821565 DOI: 10.1093/nar/gks667]
- 鲍萍萍, 陶梦华, 刘大可, 高立峰, 金凡. 吸烟、饮酒与胃癌关系的病例对照研究. 肿瘤 2001; 21: 334-338
- Liu BQ, Peto R, Chen ZM, Boreham J, Wu YP, Li JY, Campbell TC, Chen JS. Emerging tobacco hazards in China: 1. Retrospective proportional mortality study of one million deaths. *BMJ* 1998; 317: 1411-1422 [PMID: 9822393]
- 唐素贞, 胡荣华, 罗好曾. 胃癌高、低发区居民膳食对比调查. 肿瘤 1989; 9: 228
- Hancock SM, Gopal DV, Frick TJ, Pfau PR. Dilation of malignant strictures in endoscopic ultrasound

- staging of esophageal cancer and metastatic spread of disease. *Diagn Ther Endosc* 2011; 2011: 356538 [PMID: 22203779 DOI: 10.1155/2011/356538]
- 24 Chun N, Ford JM. Genetic testing by cancer site: stomach. *Cancer J* 2012; 18: 355-363 [PMID: 22846738 DOI: 10.1097/PPO.0b013e31826246dc]
- 25 Shiou SR, Singh AB, Moorthy K, Datta PK, Washington MK, Beauchamp RD, Dhawan P. Smad4 regulates claudin-1 expression in a transforming growth factor-beta-independent manner in colon cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1571-1579 [PMID: 17308096]
- 26 Xiao DS, Wen JF, Li JH, Hu ZL, Zheng H, Fu CY. Effect of deleted pancreatic cancer locus 4 gene transfection on biological behaviors of human colorectal carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 348-352 [PMID: 15637742]
- 27 Kim YH, Lee HS, Lee HJ, Hur K, Kim WH, Bang YJ, Kim SJ, Lee KU, Choe KJ, Yang HK. Prognostic significance of the expression of Smad4 and Smad7 in human gastric carcinomas. *Ann Oncol* 2004; 15: 574-580 [PMID: 15033661]
- 28 王秀文, 辛明霞, 李来. 承德市胃癌危险因素病例对照研究. *现代预防医学* 2007; 34: 3081-3082
- 29 Kang HJ, Kim EJ, Kim BG, You CH, Lee SY, Kim DI, Hong YS. Quantitative analysis of cancer-associated gene methylation connected to risk factors in Korean colorectal cancer patients. *J Prev Med Public Health* 2012; 45: 251-258 [PMID: 22880157 DOI: 10.3961/jpmph.2012.45.4.251]
- 30 郭炜, 董稚明, 郭艳丽, 杨植彬, 卞刚. 贲门腺癌中Smad4基因甲基化状态分析. *肿瘤防治研究* 2011; 05: 269-274
- 31 Kamb A, Shattuck-Eidens D, Eeles R, Liu Q, Gruis NA, Ding W, Hussey C, Tran T, Miki Y, Weaver-Feldhaus J. Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. *Nat Genet* 1994; 8: 23-26 [PMID: 7987388]
- 32 Smith E, Jones ME, Drew PA. Quantitation of DNA methylation by melt curve analysis. *BMC Cancer* 2009; 9: 123 [PMID: 19393074 DOI: 10.1186/1471-2407-9-123]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

内外源性GAS对二甲基胍诱导的大鼠大肠癌变中EGF和PGE₂表达的影响

张曼曼, 彭涛, 赵逵

■背景资料

作为一种常见的恶性肿瘤, 大肠癌的发病机制目前还不清楚, 本实验研究内外源性胃泌素(gastrin, GAS)联合二甲基胍(1,2-Dimethylhydrazine, DMH)诱导大鼠大肠癌的发生, 并用丙谷胺(proglumide, PGL)进行干预, 探讨此过程中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)等各因子的表达情况以及他们在大肠癌变中的作用。

张曼曼, 彭涛, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

张曼曼, 在读硕士, 主要从事大肠癌的研究工作。

贵州省科技计划基金资助项目, No. S-2007-103

贵州省高层次人才科研条件特助基金资助项目, No. TZJF-2011-32

作者贡献分布: 此课题由赵逵与彭涛设计; 研究过程由彭涛操作完成; 本论文初稿写作由张曼曼与彭涛共同完成; 文献查阅及校对由张曼曼完成; 赵逵审阅。

通讯作者: 赵逵, 教授, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市大连路201号, 遵义医学院附属医院消化内科. kuizhao95868@msn.com

收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-06-26

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-18

Effect of endogenous and exogenous gastrin on PGE₂ and EGF expression in dimethylhydrazine-induced colorectal cancer in rats

Man-Man Zhang, Tao Peng, Kui Zhao

Man-Man Zhang, Tao Peng, Kui Zhao, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Program of Guizhou Province, No. S-2007-103; the Special Scientific Research Fund for High-level Talents in Guizhou Province, No. TZJF-2011-32

Correspondence to: Kui Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. kuizhao95868@msn.com

Received: 2013-05-07 Revised: 2013-06-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To examine the effect of endogenous and exogenous gastrin on the expression of epidermal growth factor (EGF) and prostaglandin E₂ (PGE₂) in dimethylhydrazine-induced colorectal cancer in rats to explore the role of gastrin (GAS), cyclooxygenase (COX)-2, EGF, PGE₂, and EGF receptor (EGFR) in colorectal cancer.

METHODS: One hundred and forty rats were randomly divided into seven groups: DMH+GAS, DMH+PPI, DMH, DMH+GAS+PGL, DMH+PPI+PGL, DMH+PGL, and control group.

The concentrations of GAS, EGF and PGE₂ in serum and large intestine tissue homogenate were determined by radioimmunoassay. The expression of COX-2 and EGFR in the large intestine tissue was detected by immunohistochemistry and quantified by optical density analysis.

RESULTS: The concentrations of GAS (pg/mL) in serum and large intestine tissue homogenate were significantly higher in the DMH+GAS (15.59 ± 2.90, 0.38 ± 0.11) and DMH+GAS+PGL (15.31 ± 5.66, 0.35 ± 0.10) groups than in the control group (8.64 ± 2.36, 0.16 ± 0.03) (all *P* < 0.05), and in the DMH+PPI (20.50 ± 3.71, 0.45 ± 0.13) and DMH+PPI+PGL (19.90 ± 5.10, 0.37 ± 0.11) groups than in the DMH (13.12 ± 3.47, 0.19 ± 0.04), DMH+PGL (11.45 ± 5.13, 0.20 ± 0.05) and blank control groups (all *P* < 0.05). The concentrations of EGF (ng/mL) in serum and large intestine tissue homogenate were significantly higher in the DMH+GAS (4.26 ± 0.92, 0.011 ± 0.005) and DMH+GAS+PGL (4.29 ± 0.50, 0.009 ± 0.005) groups than in the control group (2.91 ± 0.54, 0.002 ± 0.0007) (all *P* < 0.05), and in the DMH+PPI (5.20 ± 1.03, 0.015 ± 0.007) and DMH+PPI+PGL (5.13 ± 0.50, 0.011 ± 0.007) groups than in the DMH (3.76 ± 1.47, 0.004 ± 0.002), DMH+PGL (3.59 ± 1.12, 0.002 ± 0.0018) and control groups (all *P* < 0.05). The concentrations of PGE₂ (pg/mL) in serum and large intestine tissue homogenate were higher in the DMH+GAS (76.03 ± 60.75, 2.74 ± 0.76) and DMH+PPI (70.29 ± 66.58, 2.42 ± 0.89) groups than in other groups, but the differences were not statistically significant (all *P* > 0.05). Serum and tissue concentrations of GAS (32.06 pg/mg ± 15.84 pg/mg, 0.73 pg/mg ± 0.31 pg/mg), EGF (4.48 ng/mg ± 1.13 ng/mg, 0.045 ng/mg ± 0.020 ng/mg), and PGE₂ (99.05 pg/mg ± 60.80 pg/mg, 4.27 pg/mg ± 1.17 pg/mg) in adenocarcinoma were higher than those in the control group (all *P* < 0.05). The IA of EGFR (17161.67 ± 9851.33) and COX-2 (21403.33 ± 11377.25) in the adenocarcinoma group was higher than that in the adenoma (5154.00 ± 2744.13, 7291.60 ± 2849.12) and control (3327.11 ± 1880.44, 4822.90 ± 2340.89) groups (all *P* < 0.05). The positive rates of EGFR (66.7%) and

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

COX-2 (81.5%) expression in the adenocarcinoma group was higher than those in the control group (0%, 30%) (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Endogenous and exogenous gastrin could induce the expression of EGF and stimulate the secretion of PGE₂ in colorectal cancer. PGL does not inhibit the effect of GAS on EGF. GAS, EGF, PGE₂, EGFR, and COX-2 play an important role in the formation of colorectal cancer. EGFR and COX-2 are involved in the proliferation of colorectal tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epidermal growth factor; Prostaglandin E₂; Gastrin; Proglumide; Colorectal cancer

Zhang MM, Peng T, Zhao K. Effect of endogenous and exogenous gastrin on PGE₂ and EGF expression in dimethylhydrazine-induced colorectal cancer in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1914-1924
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1914.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1914>

摘要

目的: 探讨内外源性胃泌素(gastrin, GAS)对二甲基胍诱导大鼠大肠癌变中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)表达的影响以及GAS、环氧酶(cyclooxygenase, COX)-2、EGF、PGE₂、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在大肠癌中的作用。

方法: 140只大鼠随机分为7组: (1)二甲基胍(1, 2-dimethyl hydrazine, DMH)+GAS; (2)DMH+奥美拉唑肠溶胶囊(omeprazole enteric capsules, PPI); (3)DMH; (4)DMH+GAS+丙谷胺(proglumide, PGL); (5)DMH+PPI+PGL; (6)DMH+PGL; (7)对照组。放射免疫法检测血清和大肠组织匀浆上清液中的GAS、EGF和PGE₂浓度, 免疫组织化学法检测大肠组织中的COX-2和EGFR的表达, 做图象光密度分析。

结果: (1)第18周时各组血清和组织中GAS、EGF、PGE₂浓度比较: GAS: DMH+GAS(15.59 pg/mL ± 2.90 pg/mL, 0.38 pg/mL ± 0.11 pg/mL)组与DMH+GAS+PGL(15.31 pg/mL ± 5.66 pg/mL, 0.35 pg/mL ± 0.10 pg/mL)组均高于对照组(8.64 pg/mL ± 2.36 pg/mL, 0.16 pg/mL ± 0.03 pg/mL) ($P < 0.05$), DMH+PPI(20.50 pg/mL ± 3.71 pg/mL, 0.45 pg/mL ± 0.13 pg/mL)组与DMH+PPI+PGL(19.90 pg/mL ± 5.10

pg/mL, 0.37 pg/mL ± 0.11 pg/mL)组均高于DMH(13.12 pg/mL ± 3.47 pg/mL, 0.19 pg/mL ± 0.04 pg/mL)组、DMH+PGL(11.45 pg/mL ± 5.13 pg/mL, 0.20 pg/mL ± 0.05 pg/mL)组及对照组。EGF: DMH+GAS(4.26 ng/mL ± 0.92 ng/mL, 0.011 ng/mL ± 0.005 ng/mL)组与DMH+GAS+PGL(4.29 ng/mL ± 0.50 ng/mL, 0.009 ng/mL ± 0.005 ng/mL)组均高于对照组(2.91 ng/mL ± 0.54 ng/mL, 0.002 ng/mL ± 0.0007 ng/mL) ($P < 0.05$), DMH+PPI(5.20 ng/mL ± 1.03 ng/mL, 0.015 ng/mL ± 0.007 ng/mL)组与DMH+PPI+PGL(5.13 ng/mL ± 0.50 ng/mL, 0.011 ng/mL ± 0.007 ng/mL)组均高于DMH(3.76 ng/mL ± 1.47 ng/mL, 0.004 ng/mL ± 0.002 ng/mL)组、DMH+PGL(3.59 ng/mL ± 1.12 ng/mL, 0.002 ng/mL ± 0.0018 ng/mL)组及对照组。PGE₂: DMH+GAS(76.03 pg/mL ± 60.75 pg/mL, 2.74 pg/mL ± 0.76 pg/mL)及DMH+PPI(70.29 pg/mL ± 66.58 pg/mL, 2.42 pg/mL ± 0.89 pg/mL)组高于其他组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); (2)腺癌组血清及组织中GAS(32.06 pg/mg ± 15.84 pg/mg, 0.73 pg/mg ± 0.31 pg/mg)、EGF(4.48 ng/mg ± 1.13 ng/mg, 0.045 ng/mg ± 0.020 ng/mg)、PGE₂(99.05 ng/mg ± 60.80 ng/mg, 4.27 ng/mg ± 1.17 pg/mg)浓度均高于对照组 ($P < 0.05$); (3)腺癌组织中EGFR及COX-2的IA(17161.67 ± 9851.33, 21403.33 ± 11377.25)均高于腺瘤组(5154.00 ± 2744.13, 7291.60 ± 2849.12)及对照组(3327.11 ± 1880.44, 4822.90 ± 2340.89) ($P < 0.05$); 腺癌组织中EGFR(66.7%)、COX-2(81.5%)的阳性表达率高于对照组(0%及30%) ($P < 0.05$); (4)45例大肠肿瘤中, EGFR及COX-2阳性共同表达17例, 二者的阳性概率没有差别 ($\chi^2 = 0.818$, $P > 0.05$)。

结论: (1)内外源性GAS均可诱导大肠癌变中EGF的表达, 也可能促进PGE₂的分泌; (2)PGL并没有抑制GAS对EGF的促进作用; (3)GAS、EGF、PGE₂、EGFR、COX-2在大肠癌的形成中起到了重要的作用并且EGFR和COX-2共同参与了大肠肿瘤的生长增殖过程。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 表皮生长因子; 前列腺素E₂; 胃泌素; 丙谷胺; 大肠癌

核心提示: 内外源性胃泌素(gastrin, GAS)均可诱导大肠癌变中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的表达, 可能促进前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)的分泌。丙谷胺(proglumide)并没有抑制

■ 研发前沿

GAS可促进大肠癌变中EGF的表达及PGE₂的分泌; GAS、EGF、PGE₂、EGFR、COX-2在大肠癌的发生发展中起重要作用, 但其作用机制有待研究; GAS受体拮抗剂PGL对GAS在大肠癌中作用的影响需进一步探讨。

■相关报道

Georgopoulos等对高GAS和大肠腺瘤做多元分析得出高GAS是大肠腺瘤的独立危险因素。

GAS对EGF的促进作用. GAS、EGF、PGE₂、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、环氧酶(cyclooxygenase, COX)-2在大肠癌的形成中起到了重要的作用并且EGFR和COX-2共同参与了大肠肿瘤的生长增殖过程。

张曼曼, 彭涛, 赵连. 内外源性GAS对二甲基肼诱导的大鼠大肠癌变中EGF和PGE₂表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1914-1924 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1914.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1914>

0 引言

大肠癌是常见的恶性肿瘤, 一般认为大部分大肠癌的发生遵循正常腺上皮-增生改变/微小腺瘤-早期腺瘤-中期腺瘤-后期腺瘤-癌-癌转移的演变过程, 但其演变的机制尚不十分清楚. 为进一步研究大肠癌的发病机制, 许多学者都致力于动物大肠肿瘤模型的研究, 二甲基肼(1,2-dimethyl hydrazine, DMH)是一种致癌物, 主要在肝脏被氧化成甲基偶氮甲醇, 与 β -葡萄糖醛酸结合, 一部分经尿排出, 一部分随胆汁进入肠腔, 在肠道细菌和肠黏膜上皮的 β -葡萄糖苷酸酶作用下氧化甲基偶氮甲醇又重新游离, 代谢成终致癌物, 导致大肠黏膜上皮癌变^[1]. 本实验研究丙谷胺(proglumide, PGL)在胃泌素(gastrin, GAS)及质子泵抑制剂分别联合DMH诱导大鼠大肠癌变过程中, 对血清及组织中表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)及前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)的影响, 并探讨不同癌型组织中GAS、EGF及其受体、PGE₂和环氧酶(cyclooxygenase, COX)-2浓度的不同, 且对不同癌型组织中COX-2与EGFR共同表达率进行比较, 来探讨各因子在结肠癌发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 中国人民解放军第三军医大学实验动物中心清洁级 δ Wistar大鼠140只, 质量80-120 g. DMH(Sigma公司); 奥美拉唑肠溶胶囊(omeprazole enteric capsules, PPI)(哈尔滨松鹤制药有限公司); PGL(常州亚邦制药股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 诱癌方案和动物分组: 140只大鼠在干燥清洁的动物室饲养, 温度25℃, 光照时间8 h/d, 普通颗粒饲料饮食, 饮用自来水, 实验前适应性饲养1 wk, 分别称质量, 用苦味酸编号, 每组20只, 随机分为: (1)DMH+GAS组, 同时给DMH 20 mg/kg皮下注射和五肽GAS(20 mg/qd)

腹腔注射10 wk; (2)DMH+PPI组, 同时给DMH 20 mg/kg皮下注射和PPI(1.0 mg/qd)灌胃10 wk; (3)DMH组, 单纯给DMH 20 mg/kg皮下注射10 wk; (4)DMH+GAS+PGL组, 在DMH+GAS组基础上给PGL[200 mg/(kg·qd)]灌胃10 wk; (5)DMH+PPI+PGL组, 在DMH+PPI组基础上给PGL 200 mg/(kg·qd)灌胃10 wk; (6)DMH+PGL组, 在DMH组基础上给PGL 200 mg/(kg·qd)灌胃10 wk; (7)对照组, 给相同DMH剂量的生理盐水皮下注射10 wk. 每周称质量1次, 以调整DMH及PGL的用量, 实验周期30 wk。

1.2.2 大肠肿瘤的取材及鉴定: (1)取材: 于第18、24周分别处死部分大鼠, 第30周全部处死, 清点各组致肠癌鼠的数目, 并观察大鼠肠黏膜肿瘤的数目、大小. 如黏膜无异常则肠腔远端、中段及近端各取2块; 如黏膜异常则取异常处2块, 分别冷冻和4%中性甲醛固定保存待用. 并对各组大鼠进行眶静脉取血3 mL, 血液待凝固后离心(3000 r/min, -4℃)取血清约1.5 mL冷冻保存. 冷冻采取液氮速冻后置-80℃冰箱保存; (2)鉴定: HE染色观察模型构建情况; 放射免疫法检测第18周时所取血清和大肠组织匀浆上清液的GAS、EGF和PGE₂浓度; 免疫组织化学法检测大肠组织中的COX-2和EGFR的表达, 用已知阳性切片作为阳性对照, 每张切片随机选择5个视野, $\times 400$ 高倍显微镜双人盲法观察计数, 根据染色的浓度和阳性细胞的数量分别记分: 不着色为0分, 淡黄色为1分, 黄色为2分, 棕褐色为3分. 阳性细胞数<10%为0分, 10%-30%为1分, <30%-70%为2分, 70%以上为3分. 综合上述得分, 分值>1判为表达阳性, 做图象光密度分析。

统计学处理 实验数据采用SPSS13.0统计学软件包处理, 统计方法采用ANOVA、 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠生长一般情况及肠黏膜大体观察 实验组共120只大鼠, 死亡15只, 自然死亡率12.5%, 尸检未发现大肠黏膜病变, 不计入有效动物. 对照组20只大鼠活动好, 无死亡. 第18周各组大鼠肠黏膜都未见病变; 第24周6个实验组各有2只大鼠肠黏膜发现肿瘤, 呈单发, 大小约0.2-0.5 cm不等; 第30周DMH+GAS组、DMH+GAS+PGL组和DMH+PGL组各有4只、DMH+PPI+PGL组5只、DMH组6只、DMH+PPI组7只, 大鼠见多

表 1 各组不同时点大鼠肠黏膜肿瘤致癌数 (n)

分组	18 wk		24 wk		30 wk		总致癌数
	动物数	致癌动物数	动物数	致癌动物数	动物数	致癌动物数	
DMH+GAS	6	1/6	6	2/6	5	4/5	7/17
DMH+PPI	5	0/5	5	2/5	6	6/6	8/16
DMH	6	0/6	6	2/6	7	7/7	9/19
DMH+GAS+PGL	6	0/6	6	3/6	7	4/7	7/19
DMH+PPI+PGL	5	0/5	5	2/5	6	5/6	7/16
DMH+PGL	6	1/6	6	2/6	6	4/6	7/18
对照组	6	0/6	6	0/6	8	0/8	0/20
时点癌变率	40	2/40	13	13/40	30	30/45	45/125

DMH: 二甲基胍; GAS: 胃泌素; PPI: 奥美拉唑肠溶胶囊; PGL: 丙谷胺。



图 1 大肠肿瘤。

发癌肿, 大小约0.4-1.0 cm不等(图1)。对照组20只大鼠肠黏膜均未见肿瘤。

2.2 病理HE染色观察 切片采用两位病理专家盲法阅片, 结果相同判定为阳性。对照组大鼠无一肿瘤生长, 实验组共120只大鼠, 死亡15只, 诱发肿瘤成功45只, 总癌变率约41.1%, 其中印戒细胞癌2例, 腺瘤5例, 腺瘤伴癌变11例, 腺癌27例, 均无淋巴结转移(表1, 图2)。

2.3 第18周时各组血清和组织中GAS、EGF和PGE₂浓度比较 将18 wk的荷瘤鼠除外, 对不同实验分组血液和组织中GAS、EGF和PGE₂的含量进行比较(表2, 3)。

2.3.1 各组血清和组织中GAS浓度比较: DMH+GAS组与DMH+GAS+PGL组均高于对照组($P<0.05$), DMH+PPI组与DMH+PPI+PGL组均高于DMH组、DMH+PGL组及对照组。PPI可能通过一系列的途径诱导GAS分泌, PGL作为GAS受体的拮抗剂, 并不降低GAS的表达, 而是通过阻断GAS与其受体结合来抑制GAS的作用。

2.3.2 各组血清及组织中EGF浓度: DMH+GAS组与DMH+GAS+PGL组均高于对照组($P<0.05$), DMH+PPI组与DMH+PPI+PGL组均高于DMH

组、DMH+PGL组及对照组。DMH+PPI组高于DMH+PPI+PGL组、组织中DMH+GAS组高于DMH+GAS+PGL组, 但差异均无统计学意义($P>0.05$)。可以得出GAS与其受体结合后, 可能通过一系列的信号通路诱导EGF的表达, PGL可能抑制GAS促EGF表达的作用, 但其具体作用还待进一步研究。DMH+GAS及DMH+PPI组血清及组织中PGE₂浓度高于其他组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 不同癌型血清及组织中GAS、EGF、PGE₂浓度的比较 GAS、EGF、PGE₂在腺瘤中的浓度均高于对照组($P<0.05$), 且各因子的浓度腺瘤组高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 这些因子的表达浓度在对照组-腺瘤-腺瘤伴癌变-腺癌中有依次升高的趋势(表4, 5)。

2.5 不同癌型组织EGFR、COX-2表达的免疫组织化学染色光密度(IA)值及阳性表达率的比较 腺瘤组中EGFR、COX-2的IA均高于腺瘤组及对照组($P<0.05$)。腺癌组中EGFR、COX-2的阳性表达率高于对照组($P<0.05$)(表6, 7)。

2.6 肿瘤组织中EGFR、COX-2共同表达率差别 45例大肠肿瘤中, EGFR阳性表达25例, COX-2阳性表达33例, 阳性共同表达17例, 阴性共同表达仅4例, 应用 χ^2 检验比较COX-2和EGFR的阳性表达率, 结果显示二者的阳性概率没有差别($\chi^2 = 0.818, P>0.05$), 共同表达率较高, 说明EGFR和COX-2共同参与了大肠肿瘤的生长增殖过程(表8)。

2.7 EGFR和COX-2免疫组织化学染色 COX-2和EGFR主要表达在细胞浆和胞膜, 呈黄色或者棕褐色颗粒。在正常肠组织中二者蛋白的表达均为阴性; EGFR在腺瘤中表达为阴性, 而在腺瘤伴癌变及腺癌中表达为阳性; COX-2在腺瘤、腺

■创新盘点

本实验研究内源性联合外源性GAS在大肠癌变中对EGF、PGE₂表达及分泌的影响, 并且探讨GAS、EGF、PGE₂、EGFR、COX-2多项因子在大肠癌发生过程中的相互作用以及对大肠癌形成的影响。

■应用要点

大肠癌的发病率有逐年升高的趋势,对大肠癌发病机制的研究尚不明确,本实验通过大鼠大肠癌模型的建立,探讨GAS在此过程中与其他因子的作用,进一步研究大肠癌形成的机制,从而为大肠癌的防治提供新的理论依据。

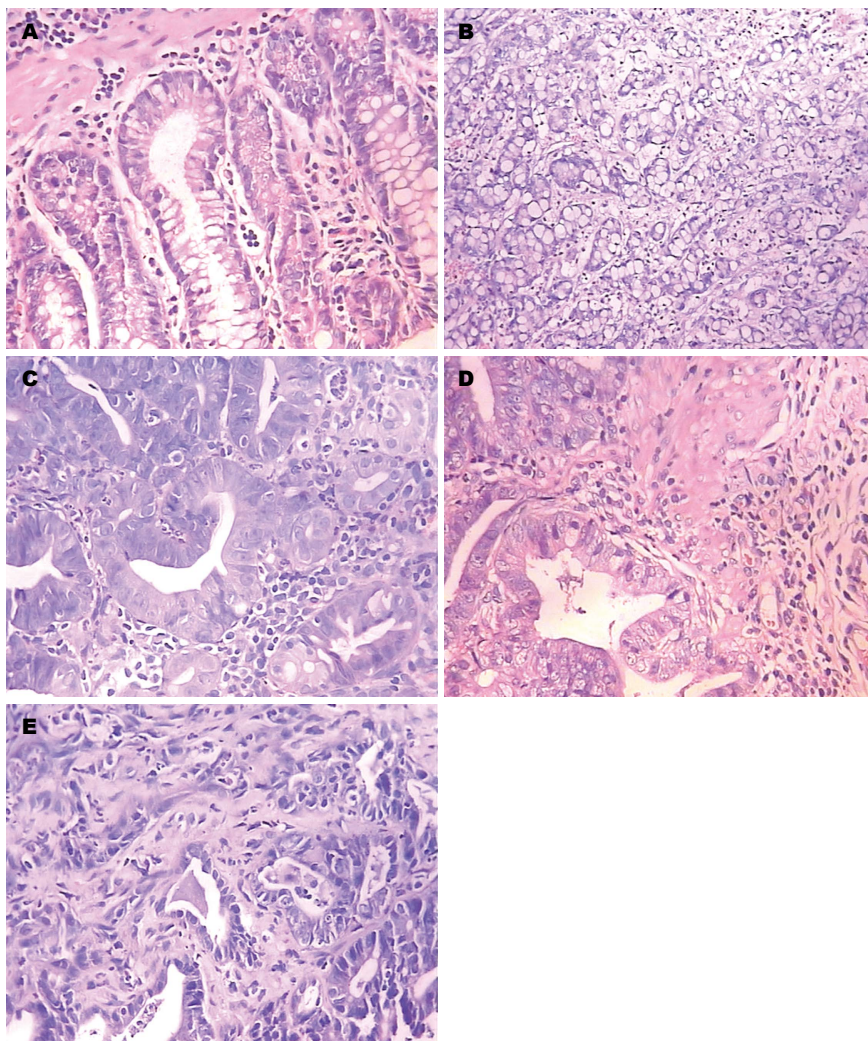


图 2 正常及肿瘤组织HE染色结果(×400)。A: 正常肠黏膜; B: 印戒细胞癌; C: 腺瘤; D: 腺瘤伴癌变; E: 腺癌。

表 2 18 wk血清实验分组间GAS、EGF和PGE₂浓度的比较 (mean ± SD)

分组	n	GAS(pg/mL)	EGF(ng/mL)	PGE ₂ (pg/mL)
DMH+GAS	5	15.59 ± 2.90 ^a	4.26 ± 0.92 ^a	76.03 ± 60.75
DMH+PPI	5	20.50 ± 3.71 ^a	5.20 ± 1.03 ^a	70.29 ± 66.58
DMH	6	13.12 ± 3.47 ^{ce}	3.76 ± 1.47 ^{ce}	68.05 ± 33.55
DMH+GAS+PGL	5	15.31 ± 5.66 ^a	4.29 ± 0.50 ^a	55.17 ± 15.15
DMH+PPI+PGL	5	19.90 ± 5.10 ^a	5.13 ± 0.50 ^a	56.56 ± 19.74
DMH+PGL	5	11.45 ± 5.13 ^{ce}	3.59 ± 1.12 ^{ce}	54.09 ± 32.47
对照组	5	8.64 ± 2.36	2.91 ± 0.54	59.72 ± 41.57
F值		5.31	3.746	0.209
P值		0.001	0.007	0.971

^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs DMH+PPI组; ^eP<0.05 vs DMH+PPI+PGL组。GAS: 胃泌素; EGF: 表皮生长因子; PGE₂: 前列腺素E₂; DMH: 二甲氨基; PPI: 奥美拉唑肠溶胶囊; PGL: 丙谷胺。

瘤伴癌变及腺癌表达均为阳性,着色由淡黄色至棕褐色(图3, 4)。

3 讨论

DMH是目前公认的大肠癌致癌剂, Wei等^[2]和 Ma等^[3]利用DMH成功诱发大鼠大肠肿瘤。本

研究应用DMH诱发大肠肿瘤,第30周癌变率高达81.1%,与文献报道基本相同,45只大鼠成功诱发肿瘤,其中印戒细胞癌2例,腺瘤伴不典型增生5例,腺瘤伴癌变11例,腺癌27例,肿瘤的组织学类型和发生发展过程与人体大肠癌的演变过程极为相似,可以较好地用于模拟人

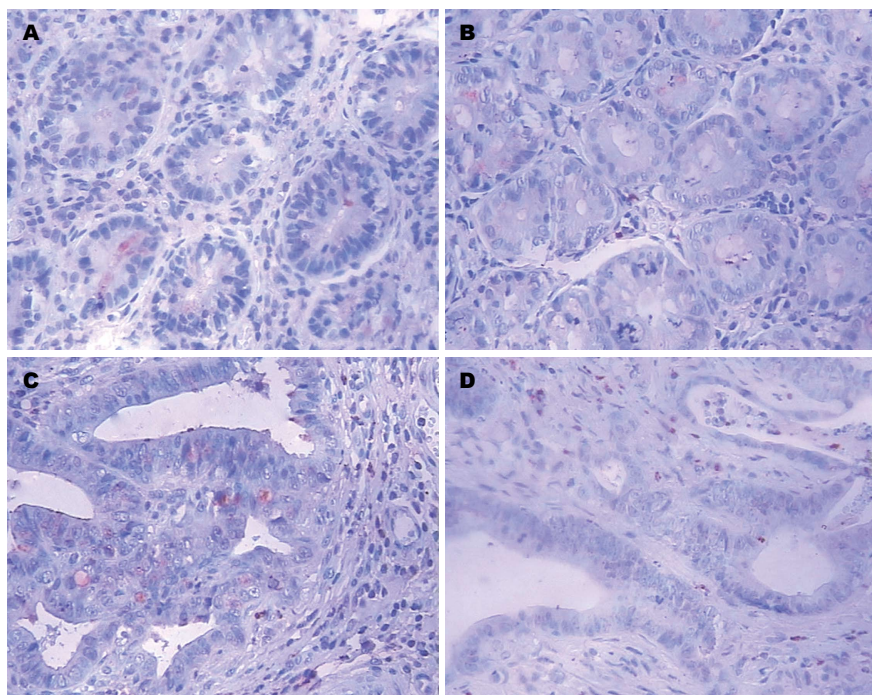


图 3 表皮生长因子受体的表达($\times 400$). A: 正常组织; B: 腺瘤; C: 腺瘤伴癌变; D: 腺癌.

■同行评价

本文新颖性较好, 有利于进一步揭示大肠癌的发病机制, 有一定理论价值.

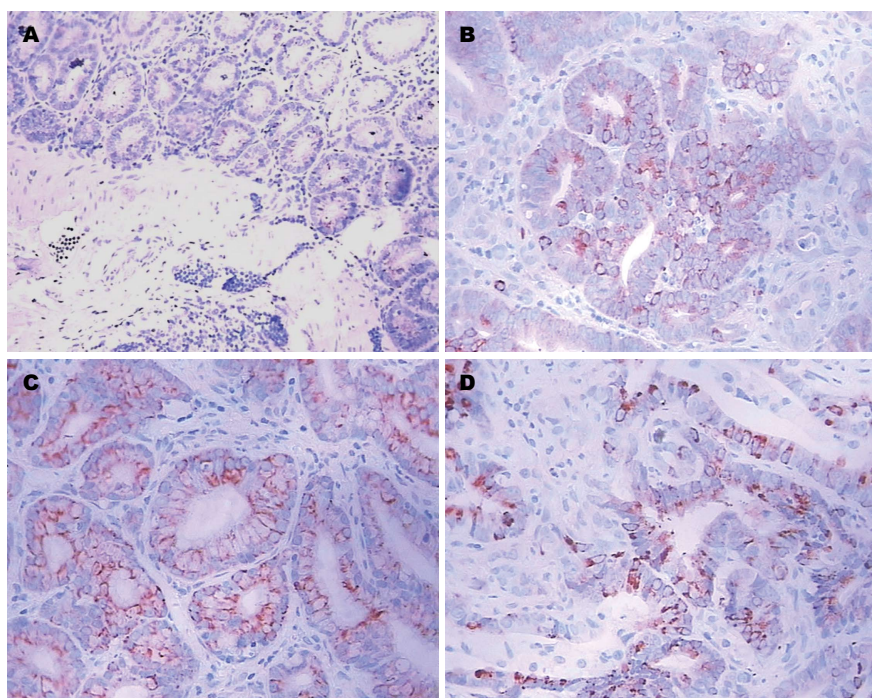


图 4 环氧酶-2的表达($\times 400$). A: 正常组织; B: 腺瘤; C: 腺瘤伴癌变; D: 腺癌.

体大肠肿瘤的实验研究.

GAS是胃肠道G细胞分泌的一种多肽激素, 由前GAS原降解而成, 他的主要生理功能是促进胃壁细胞释放胃酸和促进细胞增殖及分化^[4]. 近年来, 许多学者对GAS等胃肠激素与结肠癌的关系进行研究, 发现60%-80%以上的结肠癌组织能自分泌GAS. Georgopoulos等^[5]对高GAS和大肠腺瘤做多元分析得出高GAS是大肠腺瘤的独立危险因素. 本实验应用内外源性GAS协同DMH致癌, 予以GAS受体拮抗剂PGL

干预, 检测第18周时各组血清和组织中GAS、EGF及PGE₂的含量, 从结果可以得出PPI能够诱导体内GAS的过度表达, GAS与其受体结合后, 通过一系列信号转导诱导EGF的表达; EGF对GAS也可能有一定促进的作用. 在胃肠道肿瘤中GAS及其受体的异常表达可以激活EGFR的配体、REG蛋白和基质金属蛋白; EGFR与其配体EGF结合后可被激活并参与许多结肠癌前期病变和结肠癌, 且发现EGFR也参与许多胃肠道肿瘤模型的过程^[6,7]. 在很多结肠肿瘤细胞

表 3 18 wk组织实验分组间GAS、EGF和PGE₂浓度的比较 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	GAS(pg/mg)	EGF(ng/mg)	PGE ₂ (pg/mg)
DMH+GAS	5	0.38 ± 0.11 ^a	0.011 ± 0.005 ^a	2.74 ± 0.76
DMH+PPI	5	0.45 ± 0.13 ^a	0.015 ± 0.007 ^a	2.42 ± 0.89
DMH	6	0.19 ± 0.04 ^{cegi}	0.004 ± 0.002 ^{ceg}	2.25 ± 1.19
DMH+GAS+PGL	5	0.35 ± 0.10 ^a	0.009 ± 0.005 ^a	1.96 ± 0.55
DMH+PPI+PGL	5	0.37 ± 0.11 ^a	0.011 ± 0.007 ^a	2.00 ± 0.42
DMH+PGL	5	0.20 ± 0.05 ^{cegi}	0.002 ± 0.0018 ^{cegi}	2.29 ± 0.48
对照组	5	0.16 ± 0.03	0.002 ± 0.0007	1.83 ± 0.62
<i>F</i> 值		9.22	5.554	0.829
<i>P</i> 值		0.000	0.001	0.559

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs DMH+PPI组; ^e*P*<0.05 vs DMH+PPI+PGL组; ^g*P*<0.05 vs DMH+GAS组; ⁱ*P*<0.05 vs DMH+GAS+PGL组. GAS: 胃泌素; EGF: 表皮生长因子; PGE₂: 前列腺素E₂; DMH: 二甲基胍; PPI: 奥美拉唑肠溶胶囊; PGL: 丙谷胺.

表 4 不同癌型血清GAS、EGF和PGE₂浓度的比较 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	GAS(pg/mL)	EGF(ng/mL)	PGE ₂ (pg/mL)
腺瘤	5	13.94 ± 4.82 ^c	3.65 ± 2.11	64.07 ± 18.90
腺瘤伴癌变	11	21.43 ± 10.28	4.39 ± 0.80 ^a	65.15 ± 27.32
腺癌	27	32.06 ± 15.84 ^a	4.48 ± 1.13 ^a	99.05 ± 60.80 ^a
对照组	15	8.76 ± 4.53	2.91 ± 1.15	46.76 ± 25.57
<i>F</i> 值		8.558	4.827	3.574
<i>P</i> 值		0.000	0.005	0.021

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 腺瘤组. GAS: 胃泌素; EGF: 表皮生长因子; PGE₂: 前列腺素E₂.

表 5 不同癌型组织GAS、EGF和PGE₂浓度的比较 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	GAS(pg/mg)	EGF(ng/mg)	PGE ₂ (pg/mg)
腺瘤	5	0.30 ± 0.17 ^a	0.025 ± 0.005 ^a	3.08 ± 1.66 ^a
腺瘤伴癌变	11	0.56 ± 0.17	0.037 ± 0.017	3.64 ± 0.62
腺癌	27	0.73 ± 0.31	0.045 ± 0.020	4.27 ± 1.17
对照组	15	0.21 ± 0.12 ^{ac}	0.025 ± 0.006 ^a	2.13 ± 0.91 ^{ac}
<i>F</i> 值		8.93	3.372	7.02
<i>P</i> 值		0.000	0.026	0.001

^a*P*<0.05 vs 腺瘤组; ^c*P*<0.05 vs 腺瘤伴癌变组. GAS: 胃泌素; EGF: 表皮生长因子; PGE₂: 前列腺素E₂.

中EGF通过结合GAS启动子上的EGF的作用元件-gERE从而参与GAS表达的上调^[8]. PGL作为GAS受体拮抗剂并不降低GAS的表达, 而是通过阻断GAS与其受体结合, 抑制GAS的作用. 此实验第18周时各组血清及组织中EGF浓度的比较, DMH+PPI组均高于DMH+PPI+PGL组, 组织中DMH+GAS组高于DMH+GAS+PGL组, 但差异均无统计学意义(*P*>0.05). 此结果表明PGL可抑制GAS在大肠癌变过程中对EGF的促进作

用, 但其作用并不显著. 我们之前的研究已经证实: PGL可以阻断体外GAS促腺瘤产生EGF的作用, 而在腺癌中的作用不明显; PGL还能够抑制GAS在结肠癌细胞HT-29中对EGF的促进作用, 但其抑制作用与GAS浓度有关. He等^[9]发现PGL对原代培养大肠癌细胞SW480的增殖无明显影响, 但可抑制GAS对大肠癌细胞的促增殖作用. Meleń-Mucha等^[10]研究表明PGL在较低浓度(10⁻⁶、10⁻⁸及10⁻¹⁰ mol/L)时才能抑制大肠癌细

表 6 EGFR和COX-2在腺瘤组、腺瘤伴癌变组、腺癌组和正常组的表达的I4值 (mean ± SD)

分组	n	EGFR	COX-2
腺瘤	5	5154.00 ± 2744.13 ^a	7291.60 ± 2849.12 ^a
腺瘤伴癌变	11	10673.64 ± 3824.62 ^{ac}	15964.55 ± 9728.46 ^c
腺癌	27	17161.67 ± 9851.33	21403.33 ± 11377.25
对照组	15	3327.11 ± 1880.44 ^a	4822.90 ± 2340.89 ^a

^aP<0.05 vs 腺瘤组; ^cP<0.05 vs 正常组. EGFR: 表皮生长因子受体; COX-2: 环氧酶-2.

表 7 大肠肿瘤EGFR和COX-2阳性表达率比较

分组	n	EGFR		COX-2	
		阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
正常组	10	0	0	3	30.0
腺瘤组	5	1	20.0	3	60.0
腺瘤伴癌变组	11	6	54.5	8	72.7 ^a
腺癌组	27	18	66.7 ^a	22	81.5 ^a

^aP<0.05 vs 正常组. EGFR: 表皮生长因子受体; COX-2: 环氧酶-2.

表 8 大肠肿瘤COX-2和EGFR的共同表达 (n)

COX-2表达	EGFR表达	
	阳性	阴性
阳性	17	16
阴性	8	4

EGFR: 表皮生长因子受体; COX-2: 环氧酶-2.

胞株38的细胞增殖. GAS可以促进结肠癌细胞及N-TAK1细胞(人类结直肠神经内分泌细胞癌的细胞株)的生长,但这种促进作用可以被PGL所抑制^[11]. Baba等^[12]证明 10^{-9} - 10^{-6} mol/L G-GLy(甘氨酸延长GAS)显著地增加人类两种结肠癌细胞株(LoVo和HT-29)的侵袭性, G-GLy对结肠癌细胞的侵袭作用可以被非选择性GAS/CCK受体拮抗剂(PGL和氯苯酰色氨酸)所抑制. GAS的受体包括CCK-A、CCK-B、CCK-C, PGL并不是特异的CCKB受体的抑制剂,只是对其亲和力最强,故其阻滞作用不强^[13]. 因此,在大肠癌中PGL可能部分抑制GAS促进EGF分泌的作用,但其作用还尚待研究.

大肠肿瘤的生长增殖过程中COX-2和PGE₂发挥重要作用, COX-2的高表达与大肠癌的发生、转移密切相关. 研究发现COX-2在正常大肠上皮细胞中几乎不表达,而在大肠癌组织中呈高表达,提示COX-2的高表达可能参与了大肠

癌的发生^[14,15]. COX-2参与大肠癌形成的机制主要有如下几点: (1)抑制肿瘤细胞凋亡; (2)促进肿瘤血管的形成; (3)增强侵袭力; (4)免疫抑制; (5)促进癌前状态向癌的转化^[16-18]. 目前大量的研究均表明, COX-2/PGE₂在多种恶性肿瘤尤其是消化系肿瘤中高表达,并在恶性肿瘤的发生与发展中起到重要作用. 前列腺素能够调节体内许多生理功能,包括稳态的维持、盐平衡、生殖和免疫反应^[19]. PGE₂是胃肠道肿瘤中含量最多的前列腺素,能通过调节凋亡、促进增生和血管形成来促进肿瘤的生成^[20,21]. 近来研究证实PGE₂能够加速肿瘤的进展,通过axin的调节稳定β-catenin^[22]. 多种研究结果表明,在大肠癌形成中, GAS与COX-2均高表达并且可以促进PGE₂的分泌. 刘模荣等^[23]证实GAS和COX-2在大肠绒毛腺瘤、重度异型增生及腺瘤局部恶变时呈高表达,并且两者的阳性表达呈正相关. 而体内PGE₂浓度的平衡与COX-2的合成与降解有着重要的关系. Slice等^[24]证实, GAS可以提高COX-2 mRNA和蛋白的水平以及促进PGE₂的分泌. Colucci等^[25]的研究发现GAS可以刺激结肠癌HT-29细胞株中ERK-1/ERK-2和Akt的磷酸化、促进COX-2的表达和PGE₂的分泌. 本研究中,外源性或者PPI引起的体内GAS升高组中PGE₂的浓度与其他组相比均有所升高,但差异无统计学意义(P>0.05). 究其原因可能为体内的GAS浓度升高的程度不能够引起大鼠血清及组织中

PGE₂浓度的显著升高. 或者在DMH诱导大鼠大肠癌变过程中, 大鼠大肠癌组织产生的GAS和/或COX-2有可能对PGE₂的分泌有一定的影响.

大肠癌的发生遵循正常腺上皮-增生改变/微小腺瘤-早期腺瘤-中期腺瘤-后期腺瘤-癌-癌转移的演变过程. 许多研究表明, 演变过程中GAS、EGF、EGFR、COX-2和PGE₂过度表达, 参与肿瘤的形成. GAS-17能够增强COX-2基因的转录活性, 促进COX-2的表达的增加及PGE₂的分泌, 参与结肠癌的形成^[26]. 过度表达的CD44v6、EGF和EGFR与处于Dukes A/B期大肠癌患者的不良预后有关, 而过度表达的基质金属蛋白酶-2、COX-2、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与处于Dukes C期大肠癌患者的不良预后有关^[27]. Pai等^[28]的研究结果表明在结肠癌细胞株Caco-2、LoVo和HT-29中, PGE₂能够快速磷酸化EGFR并且激活ERK-2致有丝分裂信号途径; 而选择性EGFR抑制剂显著地抑制PGE₂诱导的ERK-2的活性. EGFR和/或他的家族成员, 尤其是ErbB-2/HER-2和ErbB-3/HER-3(统称为EGFRs)通过一些途径在影响结肠癌细胞的生存、血管生成、能动性及侵袭性中起到至关重要的作用^[29]. Stolfi等^[30]证实, 使用针对COX-2/PEG₂轴的药物可以抑制人类大肠癌及大鼠大肠癌模型的发展; 使用2-甲基-5-氨基-苯甲羟肟酸(2-14)可以阻断HT-15细胞(一种过渡表达COX-2的大肠癌细胞)的生长并抑制其死亡; 2-14也可以下调HT-29细胞及表达COX-2/PEG₂的人类大肠癌组织中由肿瘤坏死因子- α 诱导的COX-2. Konstantinopoulos等^[31]证实结肠癌周围的基质纤维是VEGF和COX-2的重要来源, 在这些细胞中, EGFR的表达与COX-2和VEGF的产量相平衡, 且此过程中AP-1及核转录因子- κ B转录因子被活化. 本实验将43例肿瘤分为腺瘤组、腺瘤伴癌变组和腺癌组, 设立正常对照组, 对GAS、EGF、PGE₂、EGFR和COX-2分别进行比较, 结果显示: 不同癌型血清及组织中GAS、EGF、PGE₂的浓度在腺癌中均高于对照组($P<0.05$), 腺瘤组也高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$). 而不同癌型组织EGFR、COX-2表达的I_A值及阳性表达率比较的结果则是: (1)腺瘤组中EGFR、COX-2的I_A均高于腺瘤组及对照组($P<0.05$); (2)腺癌组中EGFR、COX-2的阳性表达率高于对照组($P<0.05$). 从以上结果可以看出: (1)腺瘤中各因子的表达比正常腺上皮略有增强, 但无统计学

意义, 他是肿瘤的起始阶段, 也可能是治疗的最佳时期; (2)从正常腺上皮-腺瘤-腺瘤伴癌变-腺癌的演变过程中, GAS、EGF、PGE₂、EGFR、COX-2的表达有逐渐增高的趋势, 腺癌组的表达最强, 且各个因子在腺癌组的表达均高于对照组, 说明在大肠癌的发生过程中, 肿瘤组织可以诱导这些因子表达, 这些因子的表达反过来也有可能促进肿瘤的生长增殖.

人类大多数恶性肿瘤中, COX-2和EGFR两条途径被同时诱导激活^[32-36], 本实验对45例大肠肿瘤中COX-2及EGFR的阳性表达率进行分析, 结果显示二者的阳性概率没有差别, 共同表达率较高, 说明COX-2和EGFR共同参与了大肠肿瘤的生长增殖过程, 其机制可能是EGFR和c-ErbB-2通过诱导结肠癌细胞系COX-2的表达而刺激细胞增殖, 并与核内凋亡/自身免疫蛋白Nuc相作用, 增强肿瘤细胞的增殖活性, COX-2的增加又反作用于EGFR, 进一步促进肿瘤的生长. Half等^[37]证实, COX-2是ErbB-1(EGFR)和ErbB-2信号通路的下游效应器, 在人类结肠癌细胞HCA-7中, 抗EGFR和抗ErbB-2抗体能够抑制ERK磷酸化, 并且下调COX-2蛋白的表达, 而这两个抗体也能够倍增选择性COX-2抑制剂NS-398的毒性效应. 使用2fLI对Caco-2结肠癌细胞治疗可以增加EGFR的磷酸化, 引起COX-2蛋白表达的增加以及依赖COX-2的PGE₂产量的增加; 而使用EGFR络氨酸激酶抑制剂PD153035也抵消了2fLI诱导的COX-2的表达^[38]. 持续高表达的COX-2对PGE₂的促分泌作用与结肠癌的发展密切相关, PGE₂可以通过诱导EGFR或通过胞内媒介使得EGFR磷酸化, 进而再通过EGFR信号参与调节结肠^[39]. 同时检测COX-2和EGFR能更加客观的判断大肠肿瘤的生长增殖.

4 参考文献

- 1 Fiala E. Investigations into the metabolism and mode of action of the colon carcinogen 1, 2-dimethylhydrazine. *Cancer* 1975; 36: 2407-2412 [PMID: 1212658]
- 2 Wei HB, Han XY, Fan W, Chen GH, Wang JF. Effect of retinoic acid on cell proliferation kinetics and retinoic acid receptor expression of colorectal mucosa. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1725-1728 [PMID: 12918108]
- 3 Ma QY, Williamson KE, Rowlands BJ. Variability of cell proliferation in the proximal and distal colon of normal rats and rats with dimethylhydrazine induced carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 847-852 [PMID: 12378628]
- 4 潘峻涛, 吴佩. GAS在胃肠道肿瘤中的作用及其信号转导途径的研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2008;

- 13: 822-827
- 5 Georgopoulos SD, Polymeros D, Triantafyllou K, Spiliadi C, Mentis A, Karamanolis DG, Ladas SD. Hypergastrinemia is associated with increased risk of distal colon adenomas. *Digestion* 2006; 74: 42-46 [PMID: 17068397]
- 6 Takhar AS, Eremin O, Watson SA. The role of gastrin in colorectal carcinogenesis. *Surgeon* 2004; 2: 251-257 [PMID: 15570843]
- 7 Wang L, Cao H, Lu N, Liu L, Wang B, Hu T, Israel DA, Peek RM, Polk DB, Yan F. Berberine inhibits proliferation and down-regulates epidermal growth factor receptor through activation of Cbl in colon tumor cells. *PLoS One* 2013; 8: e56666 [PMID: 23457600 DOI: 10.1371/journal.pone.0056666]
- 8 Grabowska AM, Hughes J, Watson SA. Use of interfering RNA to investigate the role of endogenous gastrin in the survival of gastrointestinal cancer cells. *Br J Cancer* 2007; 96: 464-473 [PMID: 17262081]
- 9 He SW, Shen KQ, He YJ, Xie B, Zhao YM. Regulatory effect and mechanism of gastrin and its antagonists on colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 1999; 5: 408-416 [PMID: 11819478]
- 10 Meleń-Mucha G, Ławnicka H, Mucha S. The combined effects of proglumide and fluorouracil on the growth of murine Colon 38 cancer cells in vitro. *Endokrynol Pol* 2005; 56: 933-938 [PMID: 16821214]
- 11 Yamada T, Onda M, Tanaka N. Establishment and characterization of a human rectal neuroendocrine cell carcinoma in vitro. *J Exp Clin Cancer Res* 2001; 20: 561-567 [PMID: 11876552]
- 12 Baba M, Itoh K, Tatsuta M. Glycine-extended gastrin induces matrix metalloproteinase-1- and -3-mediated invasion of human colon cancer cells through type I collagen gel and Matrigel. *Int J Cancer* 2004; 111: 23-31 [PMID: 15185339]
- 13 张玉, 罗和生. GAS对结肠癌细胞株HT-29水通道蛋白4表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1234-1237
- 14 Zhan J, Liu JP, Zhu ZH, Yao HR, Chen CY. Relationship between COX-2 expression and clinicopathological features of colorectal cancers. *Chin Med J (Engl)* 2004; 117: 1151-1154 [PMID: 15361286]
- 15 Patsos HA, Greenhough A, Hicks DJ, Al Kharusi M, Collard TJ, Lane JD, Paraskeva C, Williams AC. The endogenous cannabinoid, anandamide, induces COX-2-dependent cell death in apoptosis-resistant colon cancer cells. *Int J Oncol* 2010; 37: 187-193 [PMID: 20514410]
- 16 Piazza GA, Keeton AB, Tinsley HN, Gary BD, Whitt JD, Mathew B, Thaiparambil J, Coward L, Gorman G, Li Y, Sani B, Hobrath JV, Maxuitenko YY, Reynolds RC. A novel sulindac derivative that does not inhibit cyclooxygenases but potently inhibits colon tumor cell growth and induces apoptosis with antitumor activity. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009; 2: 572-580 [PMID: 19470791 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0001]
- 17 Binion DG, Otterson MF, Rafiee P. Curcumin inhibits VEGF-mediated angiogenesis in human intestinal microvascular endothelial cells through COX-2 and MAPK inhibition. *Gut* 2008; 57: 1509-1517 [PMID: 18596194 DOI: 10.1136/gut.2008.152496]
- 18 Dianzani C, Brucato L, Gallicchio M, Rosa AC, Colino M, Fantozzi R. Celecoxib modulates adhesion of HT29 colon cancer cells to vascular endothelial cells by inhibiting ICAM-1 and VCAM-1 expression. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1153-1161 [PMID: 18084316]
- 19 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716 [PMID: 9630216]
- 20 Gupta RA, Dubois RN. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 11-21 [PMID: 11900248]
- 21 Wang D, Wang H, Shi Q, Katkuri S, Walhi W, Desvergne B, Das SK, Dey SK, DuBois RN. Prostaglandin E(2) promotes colorectal adenoma growth via transactivation of the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Cancer Cell* 2004; 6: 285-295 [PMID: 15380519]
- 22 Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, Druey KM, Gutkind JS. Prostaglandin E2 promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin-beta-catenin signaling axis. *Science* 2005; 310: 1504-1510 [PMID: 16293724]
- 23 刘模荣, 赵逵, 王红, 石国庆. 胃泌素和COX-2在结肠腺瘤中的表达及意义. *中国肿瘤临床* 2008; 35: 206-209
- 24 Slice LW, Hodikian R, Zhukova E. Gastrin and EGF synergistically induce cyclooxygenase-2 expression in Swiss 3T3 fibroblasts that express the CCK2 receptor. *J Cell Physiol* 2003; 196: 454-463 [PMID: 12891702]
- 25 Colucci R, Blandizzi C, Ghisu N, Florio T, Del Tacca M. Somatostatin inhibits colon cancer cell growth through cyclooxygenase-2 downregulation. *Br J Pharmacol* 2008; 155: 198-209 [PMID: 18587421 DOI: 10.1038/bjp.2008.268]
- 26 Marcuse R, Fredriksson PO. Fat oxidation at low oxygen pressure. I. Kinetic studies on the rate of fat oxidation in emulsions. *J Am Oil Chem Soc* 1968; 45: 400-407 [PMID: 5655524]
- 27 Wan XB, Pan ZZ, Ren YK, Ding PR, Chen G, Wan DS. [Expression and clinical significance of metastasis-related tumor markers in colorectal cancer]. *Ai Zhong* 2009; 28: 950-954 [PMID: 19728913]
- 28 Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002; 8: 289-293 [PMID: 11875501]
- 29 Patel BB, Gupta D, Elliott AA, Sengupta V, Yu Y, Majumdar AP. Curcumin targets FOLFOX-surviving colon cancer cells via inhibition of EGFRs and IGF-1R. *Anticancer Res* 2010; 30: 319-325 [PMID: 20332435]
- 30 Stolfi C, Franzè E, Monteleone I, Caruso R, Franceschilli L, Sileri P, Sica GS, Gaspari AL, Del Vecchio Blanco G, Pallone F, Monteleone G. 2-Methoxy-5-amino-N-hydroxybenzamide, a derivative of mesalamine, inhibits colon cancer cell growth through cyclo-oxygenase-2-dependent and -independent mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 2012; 123: 295-306 [PMID: 22435743 DOI: 10.1042/CS20110556]
- 31 Konstantinopoulos PA, Vandroos GP, Karamouzis MV, Gkermepesi M, Sotiropoulou-Bonikou G, Papavassiliou AG. EGF-R is expressed and AP-1 and NF-kappaB are activated in stromal myofibroblasts surrounding colon adenocarcinomas paralleling expression of COX-2 and VEGF. *Cell Oncol* 2007; 29: 477-482 [PMID: 18032824]
- 32 Shibata-Kobayashi S, Yamashita H, Okuma K, Shiraishi K, Igaki H, Ohtomo K, Nakagawa K. Correlation among 16 biological factors [p53, p21(waf1), MIB-1 (Ki-67), p16(INK4A), cyclin D1, E-cadherin, Bcl-2, TNF-α, NF-κB, TGF-β, MMP-7, COX-2, EGFR,

- HER2/neu, ER, and HIF-1 α] and clinical outcomes following curative chemoradiation therapy in 10 patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 5: 903-910 [PMID: 23426606]
- 33 Hsia TC, Tu CY, Chen YJ, Wei YL, Yu MC, Hsu SC, Tsai SL, Chen WS, Yeh MH, Yen CJ, Yu YL, Huang TC, Huang CY, Hung MC, Huang WC. Lapatinib-mediated cyclooxygenase-2 expression via epidermal growth factor receptor/HuR interaction enhances the aggressiveness of triple-negative breast cancer cells. *Mol Pharmacol* 2013; 83: 857-869 [PMID: 23355539 DOI: 10.1124/mol.112.082743]
- 34 Serfaty L. Chemoprevention of colorectal cancer with ursodeoxycholic acid: pro. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36 Suppl 1: S53-S60 [PMID: 23141895 DOI: 10.1016/S2210-7401(12)70022-0]
- 35 Qian LY, Li P, Li XR, Chen DJ, Zhu SH. Multivariate analysis of molecular indicators for postoperative liver metastasis in colorectal cancer cases. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3967-3971 [PMID: 23098501]
- 36 Gadducci A, Guerrieri ME, Greco C. Tissue biomarkers as prognostic variables of cervical cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 86: 104-129 [PMID: 23031678 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2012.09.003]
- 37 Half E, Sun Y, Sinicrope FA. Anti-EGFR and ErbB-2 antibodies attenuate cyclooxygenase-2 expression and cooperatively inhibit survival of human colon cancer cells. *Cancer Lett* 2007; 251: 237-246 [PMID: 17189670]
- 38 Hirota CL, Moreau F, Iablokov V, Dickey M, Renaux B, Hollenberg MD, MacNaughton WK. Epidermal growth factor receptor transactivation is required for proteinase-activated receptor-2-induced COX-2 expression in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G111-G119 [PMID: 22517768 DOI: 10.1152/ajpgi.00358.2011]
- 39 Hernandez Y, Sotolongo J, Breglio K, Conduah D, Chen A, Xu R, Hsu D, Ungaro R, Hayes LA, Pastorini C, Abreu MT, Fukata M. The role of prostaglandin E2 (PGE 2) in toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated colitis-associated neoplasia. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 82 [PMID: 20637112]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》
(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)

选择性肝动脉栓塞治疗巨大肝血管瘤46例

范沙丽, 佟小强, 王健, 宋莉

范沙丽, 佟小强, 王健, 宋莉, 北京大学第一医院介入血管外科 北京市 100034

范沙丽, 医师, 主要从事肿瘤介入治疗的相关研究。

作者贡献分布: 范沙丽参与数据收集、统计分析、查阅文献及论文撰写; 佟小强参与手术操作、论文指导与修改; 王健参与手术操作、论文指导; 宋莉参与数据收集和论文指导。

通讯作者: 佟小强, 教授, 主任医师, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北大医院介入血管外科。gxt_1125@163.com

电话: 010-83572633

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-30

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Transarterial embolization for treatment of giant hepatic hemangiomas: An analysis of 46 cases

Sha-Li Fan, Xiao-Qiang Tong, Jian Wang, Li Song

Sha-Li Fan, Xiao-Qiang Tong, Jian Wang, Li Song, Department of Interventional Radiology and Vascular Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Correspondence to: Xiao-Qiang Tong, Professor, Chief Physician, Peking University First Hospital, 8 Xishenku Street, Xicheng District, Beijing 100034, China. gxt_1125@163.com

Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-30

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To evaluate the long-term outcome of transarterial embolization (TAE) in patients with giant hepatic hemangiomas.

METHODS: This retrospective study included 46 patients with giant hepatic hemangiomas who were treated by TAE at our hospital from February 2003 to October 2010. Changes in tumor size between pre- and post-treatment were evaluated, and complications such as changes in liver function were analyzed as well.

RESULTS: The mean diameter of hemangiomas before TAE was 9.2 cm. All the patients were followed by ultrasound (US)/computed tomography (CT)/magnetic resonance imaging (MRI) for 3 to 106 mo. Follow-up radiological examinations revealed that the mean diameter of hemangiomas was 4.0 cm after treatment, and the reduction of tumor size was statistically significant ($P < 0.05$).

Symptoms related to hemangiomas were relieved in all the patients. Minor complications were found in 27 cases (58.7%) after embolization, and no severe complication occurred.

CONCLUSION: TAE is safe and reliable in the treatment of giant hepatic hemangiomas in terms of long-term efficacy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatic hemangiomas; Embolization; Complication

Fan SL, Tong XQ, Wang J, Song L. Transarterial embolization for treatment of giant hepatic hemangiomas: An analysis of 46 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1925-1930 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1925.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1925>

摘要

目的: 评价选择性肝动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)治疗巨大肝血管瘤的长期临床疗效。

方法: 回顾性分析了2003-02/2010-06在我院进行选择TAE治疗的46例肝血管瘤患者。对栓塞前后病灶大小及并发症出现情况进行分析。

结果: 共治疗46个病灶, 瘤体最大径平均9.2 cm, 栓塞治疗成功率为100%。随访3-106 mo, 瘤体从9.2 cm缩小到4.0 cm($P < 0.05$)。随访中, 8例病灶消失, 18例术前有临床症状者, 12例症状消失, 6例症状明显缓解。术后27例出现栓塞后综合征, 无严重并发症。

结论: 选择性肝动脉栓塞治疗肝血管瘤技术上安全可行, 长期疗效确切可靠。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝血管瘤; 动脉栓塞; 栓塞综合征

核心提示: 肝动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)治疗后并发症少, 5年内, 随着

■背景资料

目前, 随着各种影像检查技术水平的提高, 肝血管瘤在人群中的发现率越来越高, 巨大肝血管瘤(直径>4 cm)常引起一系列的临床症状, 而且血管瘤的破裂出血死亡率高达60%-78%, 所以巨大肝血管瘤需要临床干预。

■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

■ 研究前沿

目前,非手术方法在肝血管瘤治疗中的应用越来越多,最常用的有肝动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)及射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)。TAE具有创伤小、并发症少、疗效可靠等优点,截至目前,文献中大多是关于TAE治疗肝血管瘤短期疗效的报道,对于长期疗效的分析较少。

时间的增加,瘤体呈不同程度、进行性的缩小,充分说明TAE治疗肝血管瘤的长期疗效稳定、可靠。

范沙丽, 佟小强, 王健, 宋莉. 选择性肝动脉栓塞治疗巨大肝血管瘤46例. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1925-1930
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1925.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1925>

0 引言

肝血管瘤是最常见的肝脏良性肿瘤,好发于30-50岁,女性多见。人群中发病率为3%-20%^[1],尸检发生率为0.4%-7.3%。小的血管瘤多无临床症状,巨大血管瘤(直径>4 cm)^[1]可以引起腹痛、饱腹感、慢性恶心、呕吐、食欲不振、消化不良等常见症状,少见的还包括胆汁淤积(或黄疸)、腹水、胆道出血和Kasabach-Merritt综合征等严重表现。肝血管瘤的进行性增大可以导致瘤体的破裂出血,死亡率高达60%-78%^[2,3]。所以巨大肝血管瘤需要临床干预。

目前,非手术方法在肝血管瘤治疗中的应用越来越多,最常用的有肝动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)及射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)。TAE具有创伤小、并发症少、疗效可靠等优点,截至目前,文献中大多是关于TAE治疗肝血管瘤短期疗效的报道,对于长期疗效的分析较少。本研究主要基于这一点进行回顾性分析,总结如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2003-02/2010-06在我院进行TAE治疗的46例巨大肝血管瘤患者,均进行术前常规检查。入选标准:(1)病灶须经过增强计算机断层成像CT(computed tomography, CT)、增强核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)或血管造影(digital subtraction angiography, DSA)等3种检查中的至少一种诊断为肝血管瘤;(2)单发者血管瘤最大径>4 cm,多发者最大瘤体>4 cm;(3)患者同意进行TAE治疗;(4)无恶性肿瘤证据。排除标准:血管瘤最大径≤4 cm;依从性差或随访资料不全;不能排除恶性肿瘤者。

1.2 方法

1.2.1 治疗: TAE患者仰卧于手术台上,右(或左)腹股沟区常规消毒、铺巾、局麻后,采用Seldinger技术穿刺右(或左)股动脉成功后,插入5F导管至肝总动脉造影,明确肿瘤供血动脉,病灶区可见大小不等血窦染色,动脉期呈“树上挂果征”。然后插入微导管,超选择插管至肿瘤供血

动脉,造影剂证实后注入博来霉素及碘化油乳剂(博来霉素5-25 mg,碘化油4-20 mL)。造影显示肿瘤内碘油沉积良好,肿瘤染色消失,结束手术。拔管后局部加压包扎,返回病房。嘱右(或左)下肢制动24 h,监测生命指征,对症处理。

1.2.2 术后随访: 术后要求患者1-6 mo复查腹部增强CT,如碘油沉积良好、瘤体缩小者则间隔半年或1年复查CT、MRI或B超;疗效不明显者根据情况再次栓塞或选择其他治疗方法。随访主要通过门诊、电话相结合的方式。随访时间以患者首次接受栓塞治疗日期为起点至术后末次影像学检查时间。由于患者均熟知肝血管瘤的良性特点,在随访的时间及影像检查方法上存在一定的不均一性。

1.2.3 观察内容: 包括平均随访时间、栓塞前后血管瘤大小、进行何种影像学检查、临床症状、肝功能,随访时间<36 mo(3年)、36-60 mo(3-5年)以及>60 mo(5年)者瘤体栓塞前后缩小程度以及栓塞后综合征发生情况。临床症状缓解率为临床症状消失和症状改善病例数之和与术前总的有症状病例数之比。

统计学处理 运用SPSS13.0软件进行数据处理,计量资料用mean±SD或者中位数(最大值,最小值)表示;同一患者治疗前后肿瘤大小比较采用自身配对t检验,任意两组采用组间对比方差分析,所有数据均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的基线特点 46例患者,男:女=17:29,年龄30-68岁,平均46.6岁±8.2岁。所有患者共治疗46个病灶,单发27例(58.7%),多发19例(41.3%),多发者栓塞最大病灶。瘤体最大径4.5-24.0 cm,平均9.2 cm±3.5 cm,具体分布如图1中所示。其中23例无症状;9例术前定期体检过程中瘤体不断增大;18例有腹痛、腹胀、腹部不适、嗝气、腹部肿物等症状;2例患者肝功轻度异常,包括1例谷丙转氨酶升高,1例谷丙转氨酶、谷草转氨酶均升高(表1)。

43例患者经B超检查发现病灶,另3例为CT检查时偶然发现。所有患者中,43例(93.5%)经腹部增强CT确诊,2例(4.3%)经MRI确诊,1例(2.2%)由DSA确诊。

2.2 DSA 46例术前造影动脉期均呈典型的“树上挂果征”,其中43例(93.5%)由肝动脉供血,2例(4.3%)由肠系膜上动脉供血,1例(2.2%)由胃

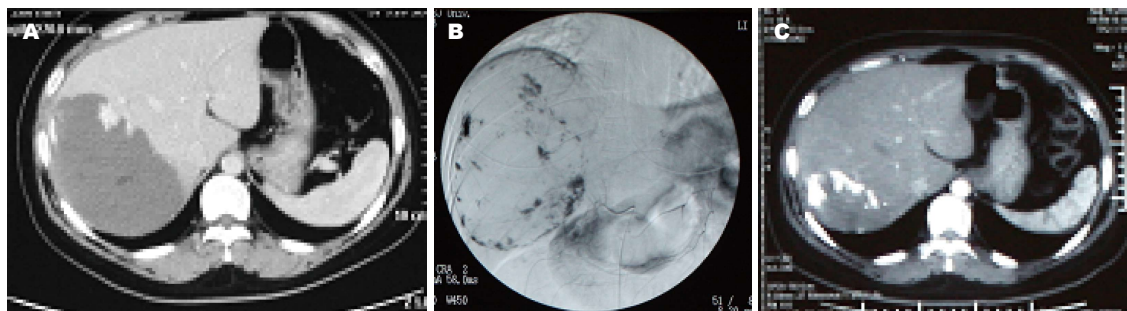


图1 病例1, 女, 35岁, 无不适, 体检过程中瘤体逐渐增大。A: 术前增强CT, 示右叶单发血管瘤, 最大径13 cm; B: 术前血管造影; C: 术后5 mo复查CT, 瘤体大小5.4 cm. 术后第3年B超随访, 病灶消失。

■创新盘点

本研究认为TAE治疗肝血管瘤长期疗效显著, 并发症少, 同时治疗5年以后, 瘤体缩小程度明显减慢, 且瘤体大小与治疗3-5年内大小基本无明显变化, 此观点与之前文献报道不一致。

表1 肝血管瘤患者基线特点 ($n = 46$)

年龄(岁)	46.6 ± 8.2(30–68)
性别	
男	17
女	29
病灶特点(n)	
单发	27
多发	19
病灶大小(cm)	9.2 ± 3.5(4.5–24.0)
确诊方法(n (%))	
CT	43(93.5)
MRI	2(4.3)
DSA	1(2.2)

CT: 计算机断层成像; MRI: 核磁共振成像; DSA: 数字减影血管成像。

十二指肠动脉供血。1例术前CT检查为单发病灶, DSA造影发现新的小病灶。

2.3 临床疗效观察 共治疗46例患者中的46个病灶, 手术成功率为100%。其中进行1次治疗37例(80.5%), 2次7例(15.2%), 3次2例(4.3%)。

平均随访43.4 mo ± 24.8 mo(3–106 mo), 瘤体缩小了5.2 cm ± 2.8 cm(9.2 cm ± 3.5 cm vs 4.0 cm ± 3.4 cm), 采用配对 t 检验, 两者差异具有统计学意义($P < 0.05$)。其中19例随访时间 < 36 mo(3年), 瘤体缩小3.6 cm ± 2.6 cm(9.7 cm ± 4.5 cm vs 6.3 cm ± 3.8 cm, $P < 0.05$); 14例随访36–60 mo(3–5年), 瘤体缩小6.1 cm ± 2.9 cm(8.7 cm ± 2.9 cm vs 2.6 cm ± 1.9 cm, $P < 0.05$); 13例随访时间 > 60 mo(5年), 瘤体缩小6.3 cm ± 2.0 cm(8.9 cm ± 2.2 cm vs 2.6 cm ± 2.6 cm, $P < 0.05$)(表2)。3组数据术前瘤体大小无明显差异, 术后随访时间 < 3 年组与其他两组之间均 $P < 0.05$, 有统计学意义; 随访3–5年组与随访时间 > 5 年组之间 $P > 0.05$, 无统计学意义。随访过程中影像学检查包括14例采用

CT, 1例MRI, 31例B超。治疗的46个病灶中, 有8例(17.4%)随访过程中病灶消失(图1, 2), 1例患者术前术后瘤体大小无明显变化, 另1例患者经过两次栓塞治疗, 原病灶明显缩小(从10 cm缩小到2.3 cm), 术后第4年随访过程中出现一直径2.8 cm的新发血管瘤。术前18例(18/46)有临床症状者, 随访过程中12例(66.7%)症状消失, 余6例(33.3%)症状明显改善, 故临床症状缓解率为100%。随访中45例(97.8%)肝功能正常, 1例(2.2%)胆红素轻度升高; 术前2例轻度肝功能异常者, 术后1 wk内复查均恢复正常。

2.4 术后并发症 46例患者中, 27例(58.7%)出现栓塞后综合征(post-embolization syndrome, PES)。20例(43.5%)术后3 d内肝功能轻度异常, 其中谷丙转氨酶增高19例(41.3%), 谷草转氨酶增高13例(28.3%), 治疗后1 wk内多数恢复正常。17例有临床症状, 包括腹痛、腹胀、腹部不适13例(28.3%), 恶心6例(13.0%), 呕吐3例(6.5%), 纳差2例(4.3%), 发热1例(2.2%), 皮肤红斑1例(2.2%), 以上症状均经保守或对症治疗后恢复正常。所有病例均未出现肝功能严重损害、胆道损伤及异位栓塞等严重并发症(表3)。

3 讨论

肝血管瘤分为海绵状血管瘤、毛细血管性血管瘤和混合性血管瘤, 成人最常见的是海绵状血管瘤。迄今为止, 有文献报道^[4]的成人肝毛细血管性血管瘤仅有7例, 所以通常所说的肝血管瘤是指成人的海绵状血管瘤, 系肝脏血窦于胚胎阶段的发育障碍所致。文献报道中血管瘤最大径可达46 cm^[5]。肝血管瘤的血供均来自肝动脉^[6], 这为TAE治疗肝血管瘤提供了理论依据。

目前, 关于巨大肝血管瘤的治疗标准仍存在争议。Erdogan等^[7]认为肝血管瘤的治疗主要依据瘤体的大小和其引起的临床症状; Terkivatan

■应用要点

本研究阐明了TAE治疗肝血管瘤的长期疗效显著,为该技术的广泛应用提供了依据,但是基于样本量较小,所以有待大样本研究进一步证实。

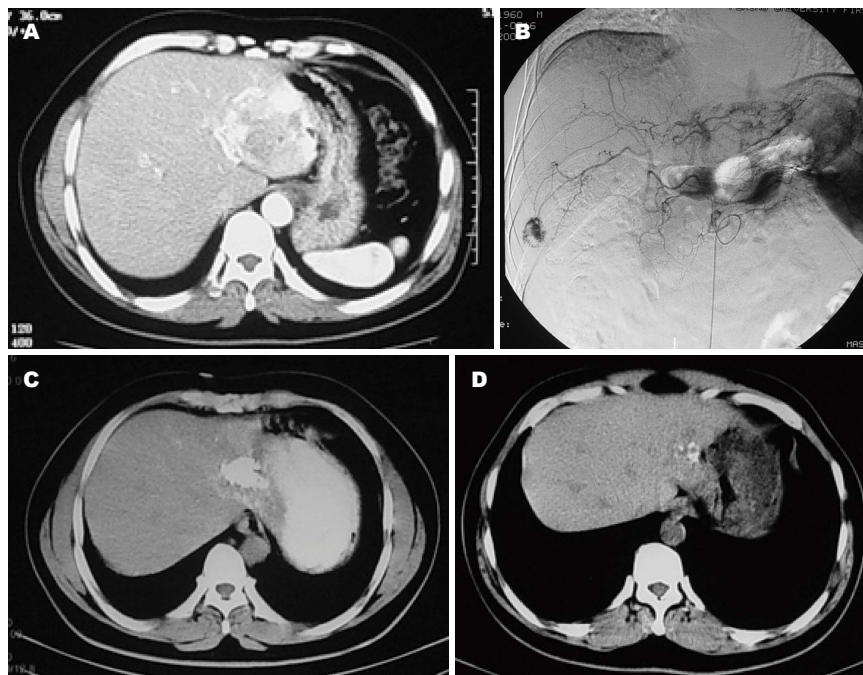


图 2 病例2,男,45岁,无不适。A:术前CT示肝左叶单发血管瘤,大小约为5 cm; B:术前血管造影; C:术后3 mo CT; D:术后1年CT平扫病灶逐渐缩小,2年后B超复查,病灶消失。

表 2 血管瘤大小

随访时间(mo)	n	血管瘤大小(cm)			P值
		术前	术后	缩小	
<36(3年)	19	9.7 ± 4.5	6.3 ± 3.8	3.6 ± 2.6	<0.05
36-60(3-5年)	14	8.7 ± 2.9	2.6 ± 1.9	6.1 ± 2.9	<0.05
>60(5年)	13	8.9 ± 2.2	2.6 ± 2.6	6.3 ± 2.0	<0.05

表 3 术后并发症

类型	n	所占百分比(%)
腹痛、腹胀、腹部不适	13	28.3
恶心	6	13.0
呕吐	3	6.5
纳差	2	4.3
发热	1	2.2
皮肤红斑	1	2.2
一过性肝功异常	20	43.5

等^[8]则认为巨大肝血管瘤进行保守治疗是安全的,只有当出现持续且严重的临床症状时才进行手术治疗,因此,瘤体的大小不能作为治疗的指征。但是肝血管瘤越大,其破裂出血的危险性就越高,而肝血管瘤破裂出血患者的死亡率又极高,所以,通常把肝血管瘤的大小依然作为治疗的标准之一。文献中对于自发破裂的巨大肝血管瘤^[9-11]及>30 cm的巨大血管瘤^[12-14]多采用肝动脉栓塞术联合手术切除进行治疗,首先行栓塞术控制出血或减少血流然后进行手术切除。

迄今为止,外科手术切除仍然是最常用、最有效的治疗手段^[15,16],包括局部肝切除、肿瘤核除及腹腔镜下肝切除术治疗3种。研究表明血管瘤的大小与术中出血量、输血量及手术时间成正相关^[17]。近年来,腹腔镜下肝切除术治疗肝血管瘤的数量不断增多,具有创伤小、并发症少及恢复快等微创特点^[18,19],但腹腔镜肝切除术仍是一种高风险的手术,必须严格控制手术适应证^[18]。

RFA治疗肝血管瘤具有创伤小、安全、有效等优点^[20,21],但是受到血管瘤位置和大小制约,而且RFA术后部分患者可以出现皮肤烧伤等并发症。近年来,随着超声技术的发展,在超声引导下穿刺肝血管瘤注入硬化剂在临床取得较好的效果,但是目前多是国内文献的报道^[22],有待进一步的研究。

TAE治疗肝血管瘤的疗效及安全性已得到肯定^[23],但是关于其长期疗效国内外文献中报道的却很少,病例数也较少。本研究中46例患者平均随访43.4 mo,瘤体从9.2 cm缩小到4.0 cm($P<0.05$),临床症状缓解率达到100%;其中8例患者病灶完全消失(1例瘤体13 cm经2次栓塞,2例瘤体分别

为9.5和10 cm各经1次栓塞), 说明TAE治疗肝血管瘤疗效显著, 与文献报道中^[24-28]结果相一致。根据随访时间的不同, 本数据分为3组, 即随访时间<36 mo(3年)、36-60 mo(3-5年)以及>60 mo(5年), 3组数据术前瘤体大小无明显差异, 术后随访时间<3年组与其他两组之间均 $P<0.05$, 有统计学意义; 随访3-5年组与随访时间>5年组之间 $P>0.05$, 无统计学意义, 说明栓塞治疗前后瘤体的缩小程度与栓塞后时间的增加不是线性相关, 且栓塞治疗后5年内, 随着时间的增加, 瘤体呈不同程度、进行性的缩小, 但是5年以后, 瘤体缩小程度明显减慢, 且瘤体大小与治疗3-5年内大小基本无明显变化。近期国内的一项研究^[26]表明, 栓塞治疗后, 随着时间的增加, 瘤体呈不同程度、进行性的缩小, 本研究结果与此结果不相一致, 但是两者的样本量都偏小, 有待大样本研究来进一步证实。总的来说, TAE治疗肝血管瘤的长期疗效稳定、可靠。本研究在随访期间仅有1例患者出现了新发血管瘤, 因瘤体较小且无症状, 所以采取保守治疗, 定期复查。

TAE术后并发症主要表现为栓塞后综合征(发热、腹痛、恶心、呕吐)、一过性肝功能轻度异常, 本研究中27例患者出现了轻微并发症, 经保守或对症支持治疗后均恢复正常。46例患者均未出现严重并发症, 现有文献中关于栓塞后严重并发症的报道较少, 仅有10例出现肝内外胆管的损伤^[29,30], 说明TAE治疗肝血管瘤的安全性较高。

总之, 本研究结果表明经导管肝动脉栓塞治疗肝血管瘤创伤小, 并发症少, 长期疗效显著。

4 参考文献

- 1 Schnellendorfer T, Ware AL, Smoot R, Schleck CD, Harmsen WS, Nagorney DM. Management of giant hemangioma of the liver: resection versus observation. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 724-730 [PMID: 20980175 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.08.006]
- 2 Gilon D, Slater PE, Benbassat J. Can decision analysis help in the management of giant hemangioma of the liver? *J Clin Gastroenterol* 1991; 13: 255-258 [PMID: 2066541 DOI: 10.1097/00004836-199106000-00003]
- 3 Griffa B, Basilico V, Bellotti R, Griffa A, Senatore S, Capriata G. [Spontaneous rupture of giant subcapsular hemangioma of the liver with hemoperitoneum and hemorrhagic shock: a case report]. *Chir Ital* 2005; 57: 389-392 [PMID: 16231832]
- 4 Jhuang JY, Lin LW, Hsieh MS. Adult capillary hemangioma of the liver: case report and literature review. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27: 344-347 [PMID: 21802646 DOI: 10.1016/j.kjms.2011.03.003]
- 5 Giuliani F, Ardito F, Vellone M, Giordano M, Rannucci G, Piccoli M, Giovannini I, Chiarla C, Nuzzo G. Reappraisal of surgical indications and approach for liver hemangioma: single-center experience on 74 patients. *Am J Surg* 2011; 201: 741-748 [PMID: 20937504 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.03.007]
- 6 Herman P, Costa ML, Machado MA, Pugliese V, D'Albuquerque LA, Machado MC, Gama-Rodrigues JJ, Saad WA. Management of hepatic hemangiomas: a 14-year experience. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 853-859 [PMID: 15985244 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.01.292]
- 7 Erdogan D, Busch OR, van Delden OM, Bennink RJ, ten Kate FJ, Gouma DJ, van Gulik TM. Management of liver hemangiomas according to size and symptoms. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1953-1958 [PMID: 17914976 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04794.x]
- 8 Terkivatan T, Vrijland WW, Den Hoed PT, De Man RA, Hussain SM, Tilanus HW, IJzermans JN. Size of lesion is not a criterion for resection during management of giant liver haemangioma. *Br J Surg* 2002; 89: 1240-1244 [PMID: 12296890 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2002.02219.x]
- 9 Jain V, Ramachandran V, Garg R, Pal S, Gamagatti SR, Srivastava DN. Spontaneous rupture of a giant hepatic hemangioma - sequential management with transcatheter arterial embolization and resection. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 116-119 [PMID: 20339183 DOI: 10.4103/1319-3767.61240]
- 10 Lupinacci RM, Szejnfeld D, Farah JF. Spontaneous rupture of a giant hepatic hemangioma. Sequential treatment with preoperative transcatheter arterial embolization and conservative hepatectomy. *G Chir* 2011; 32: 469-472 [PMID: 22217374]
- 11 Vassiou K, Rountas H, Liakou P, Arvanitis D, Fezoulidis I, Tepetes K. Embolization of a giant hepatic hemangioma prior to urgent liver resection. Case report and review of the literature. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 800-802 [PMID: 17508234 DOI: 10.1007/s00270-007-9057-y]
- 12 Akamatsu N, Sugawara Y, Komagome M, Ishida T, Shin N, Cho N, Ozawa F, Hashimoto D. Giant liver hemangioma resected by trisectorectomy after efficient volume reduction by transcatheter arterial embolization: a case report. *J Med Case Rep* 2010; 4: 283 [PMID: 20731839 DOI: 10.1186/1752-1947-4-283]
- 13 Seo HI, Jo HJ, Sim MS, Kim S. Right trisegmentectomy with thoracoabdominal approach after transcatheter arterial embolization for giant hepatic hemangioma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3437-3439 [PMID: 19610149 DOI: 10.3748/wjg.15.3437]
- 14 Zhou JX, Huang JW, Wu H, Zeng Y. Successful liver resection in a giant hemangioma with intestinal obstruction after embolization. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2974-2978 [PMID: 23704832]
- 15 Hoekstra LT, Bieze M, Erdogan D, Roelofs JJ, Beuers UH, van Gulik TM. Management of giant liver hemangiomas: an update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 263-268 [PMID: 23445235 DOI: 10.1586/egh.13.10]
- 16 Gedaly R, Pomposelli JJ, Pomfret EA, Lewis WD, Jenkins RL. Cavernous hemangioma of the liver: anatomic resection vs. enucleation. *Arch Surg* 1999; 134: 407-411 [PMID: 10199314 DOI: 10.1001/archsurg.134.4.407]
- 17 Hanazaki K, Kajikawa S, Matsushita A, Monma T, Hiraguri M, Koide N, Nimura Y, Adachi W, Amano J. Giant cavernous hemangioma of the liver: is tumor size a risk factor for hepatectomy? *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999; 6: 410-413 [PMID: 10664292]

同行评价

本文比较了巨大肝血管瘤TAE治疗前后病灶大小的变化及并发症的情况, 具有一定的指导意义。

- DOI: 10.1007/s005340050141]
- 18 原春辉, 修典荣, 蒋斌, 马朝来, 李磊, 李智飞, 贾易木, 熊京伟, 张同琳. 腹腔镜肝切除术在治疗肝血管瘤中的价值. 中国微创外科杂志 2012; 12: 1072-1074
- 19 李明浩, 王克华, 刘东涛, 张涛, 刘晶, 牛占学. 腹腔镜肝切除术临床分析13例. 中国腔镜外科杂志(电子版) 2012; 5: 200-204
- 20 Park SY, Tak WY, Jung MK, Jeon SW, Cho CM, Kweon YO, Kim KC. Symptomatic-enlarging hepatic hemangiomas are effectively treated by percutaneous ultrasonography-guided radiofrequency ablation. *J Hepatol* 2011; 54: 559-565 [PMID: 21115209 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.024]
- 21 Hinshaw JL, Laeseke PJ, Weber SM, Lee FT. Multiple-electrode radiofrequency ablation of symptomatic hepatic cavernous hemangioma. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: W146-W149 [PMID: 17715082 DOI: 10.2214/AJR.05.0750]
- 22 梁荷英, 付伟娟, 郭孝伟, 王艺海, 寇育红, 褚雯, 马丽. 超声介入硬化治疗大块型、巨块型肝血管瘤的远期疗效. 中国介入影像与治疗学 2006; 3: 52-54
- 23 Giavroglou C, Economou H, Ioannidis I. Arterial embolization of giant hepatic hemangiomas. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2003; 26: 92-96 [PMID: 12522645 DOI: 10.1007/s00270-002-2648-8]
- 24 Zeng Q, Li Y, Chen Y, Ouyang Y, He X, Zhang H. Gigantic cavernous hemangioma of the liver treated by intra-arterial embolization with pingyangmycin-lipiodol emulsion: a multi-center study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2004; 27: 481-485 [PMID: 15383851 DOI: 10.1007/s00270-003-2754-2]
- 25 孔鹏, 鹿化伟, 王家平, 闫东, 李迎春, 孙敏, 谭晶, 童玉云, 滕云山. 平阳霉素碘油乳剂超选择硬化性栓塞治疗肝血管瘤. 介入放射学杂志 2011; 20: 123-126
- 26 蒋旭远, 徐克. 平阳霉素碘油乳剂动脉栓塞治疗肝血管瘤的中远期疗效评价. 介入放射学杂志 2012; 21: 31-34
- 27 田锦林, 杜亚辉, 罗军, 李春雷, 张林医. 肝血管瘤栓塞治疗后肝功能及瘤体大小变化. 中国介入影像与治疗学 2010; 7: 273-277
- 28 张谷敏. 肝海绵状血管瘤的介入治疗. 中国医疗前沿 2012; 7: 45-46
- 29 Huang XQ, Huang ZQ, Duan WD, Zhou NX, Feng YQ. Severe biliary complications after hepatic artery embolization. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 119-123 [PMID: 11833085]
- 30 Huang X, Huang Z, Duan W, Zhou N, Feng Y. [Damage to intra- and extrahepatic bile duct after hepatic artery embolization]. *Zhonghua Waikai Zazhi* 2000; 38: 169-172, 179 [PMID: 11832018]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

AFP含量和寄生血管对中晚期肝癌患者TACE治疗的影响

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海峰, 王琳, 林志东, 谢协驹, 李孟森

何二霞, 林海峰, 王琳, 海南省农垦总医院肿瘤内科 海南省海口市 570311

聂忠仕, 林志东, 海南省农垦总医院放射科 海南省海口市 570311

朱明月, 谢协驹, 李孟森, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室 海南医学院 海南省海口市 571199

何二霞, 副主任医师, 主要从事肝癌的诊治工作。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260306, 81160261, 31060164

教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0124

教育部重点科技基金资助项目, No. 211146

海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038

海南省自然科学基金资助项目, Nos. 309034, 310044

海南省卫生计生厅科研基金资助项目, No. 琼卫2011-71

作者贡献分布: 何二霞负责实验设计及实施; 聂忠仕负责肝癌的CTA重建; 林海峰、王琳及林志东负责肝癌的TACE治疗; 朱明月与谢协驹负责数据分析; 李孟森负责项目的总体设计、临床实施和协调、论文数据的整理和论文撰写、审校。

通讯作者: 李孟森, 教授, 571199, 海南省海口市学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院。

mengsenli@163.com

电话: 0898-66895322

收稿日期: 2013-04-22 修回日期: 2013-05-18

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-18

Hainan Province, China. mengsenli@163.com

Received: 2013-04-22 Revised: 2013-05-18

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To assess the value of alpha fetoprotein (AFP) levels and presence of parasitical blood vessels in evaluating response to transarterial chemoembolization (TACE) in patients with advanced liver cancer.

METHODS: One hundred and sixty-three patients who were diagnosed with advanced liver cancer by pathology, iconography and tumor molecular biomarker detection and underwent TACE were included in this study. Serum levels of AFP were detected by radioactive enzyme-linked immunoassay. Computer tomography angiography (CTA) was used to detect parasitical angiogenesis.

RESULTS: Of 131 AFP-positive patients before TACE, 82 had decreased AFP after TACE, and the response rate (survival time over one year) was 87.8% (72/82); 13 had increased AFP, and the response rate was 30.8% (4/13); 36 had unchanged AFP, and the response rate was 58.3% (21/36). In contrast, the response rate was 100% (32/32) in 32 AFP-negative patients. The response rate was significantly higher in AFP-negative patients and patients with decreased AFP than in those with increased or unchanged AFP ($P < 0.01$). Fifty-six patients developed parasitical blood vessels (including 53 AFP-positive and 3 AFP-negative patients). After TACE, the response rate was significantly higher in patients without parasitical blood vessels than in those having parasitical blood vessels (78.5% vs 41.1%, $P < 0.05$). The percentage of AFP-positive patients having parasitical blood vessels was significantly higher than that of AFP-negative patients having parasitical blood vessels (40.1% vs 9.4%, $P < 0.01$).

CONCLUSION: High serum levels of AFP and presence of parasitic blood vessels are associated with a poor response to TACE in patients with advanced liver cancer. Measurement of

■背景资料

甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是肝癌发生过程中高特异性标志物,在临床上作为早期诊断肝癌的金标准,AFP含量的高低能预测肝癌治疗的效果,研究已经发现,AFP和肝癌组织血管生成有关,而肝癌组织血管生成对中晚期肝癌患者行经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗效果有较大的影响。中晚期肝癌患者目前公认首选的治疗方法是TACE,所以预期TACE效果显得尤为重要。

Association of alpha fetoprotein levels and presence of parasitical blood vessels with response to TACE in patients with advanced liver cancer

Er-Xia He, Zhong-Shi Nie, Ming-Yue Zhu, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Zhi-Dong Lin, Xie-Ju Xie, Meng-Sen Li

Er-Xia He, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Department of Tumor Internal Medicine; Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

Zhong-Shi Nie, Zhi-Dong Lin, Department of Radioactive Medicine, Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

Ming-Yue Zhu, Xie-Ju Xie, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention; Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260306, 81160261 and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; the Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; the Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science Foundation of Hainan Province, Nos. 309034 and 310044; the Research Fund of Department of Health of Hainan Province, No. 2011-71

Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention; Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Haikou 571199,

■同行评议者

康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

■研究前沿

肝癌是严重威胁人类健康的重点疾病,由于肝癌发生有很大的隐蔽性,所以临床上确诊为肝癌时,大多数已经是中晚期。中晚期肝癌的治疗手段,目前公认是TACE治疗法,但是对TACE治疗的评价、预期是亟待开拓的研究领域。由于AFP含量和寄生血管的存在是影响TACE治疗效果的重要因素,所以很有必要开展AFP与肝癌组织血管生成相关性研究。

AFP concentration and detection of parasitological angiogenesis by CTA may be used to evaluate the response to TACE therapy in patients with advanced liver cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Advanced liver cancer; Alpha fetoprotein; Transarterial chemoembolization; Parasitological angiogenesis

He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Lin ZD, Xie XJ, Li MS. Association of alpha fetoprotein levels and presence of parasitological blood vessels with response to TACE in patients with advanced liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1931-1938 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1931.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1931>

摘要

目的: 评价血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)含量变化和寄生血管存在对中晚期肝癌经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗的影响。

方法: 临床上病理学、影像学 and 肿瘤分子标志物检测,确诊163例中晚期肝癌的患者,在行TACE治疗前后用放射酶联免疫法检测患者血清AFP含量变化以及TACE治疗前行供血动脉CT血管造影(computer tomography angiography, CTA)检查,了解肝癌的寄生血管供血动脉情况。

结果: 在163例患者中,有131例AFP阳性,经TACE治疗后,其中82例AFP降低,有效治疗(1年生存以上)率为87.8%(72/82); 13例AFP升高,有效治疗率为30.8%(4/13); 36例AFP含量没有显著变化,有效治疗率为58.3%(21/36)。32例AFP阴性患者的有效治疗率为100%(32/32); 分析显示,AFP降低或AFP阴性的患者的有效治疗率均显著性高于AFP升高或不变的患者($P < 0.01$)。CTA成像显示在163例患者中,有56例患者有寄生血管存在(AFP阳性53例,AFP阴性3例),经与数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查对照,吻合率100%。经TACE治疗后,无寄生血管患者有效治疗率为78.5%(84/107),而有寄生血管患者有效治疗率则为41.1%(23/56),两者比较有显著性差异($P < 0.05$); 分析AFP含量与寄生血管存在的相关性表明,AFP阳性患者有寄生血管存在率为40.1%(53/131),而AFP阴性患者有寄生血管存在率为9.4%(3/32),两者比较有显著性差异($P < 0.01$)。

结论: 血清AFP含量高和有寄生血管供应是导致TACE治疗中晚期肝癌患者效果不良的重要因素; AFP含量升高与肝癌组织寄生血管生成有关; 联合AFP含量监测和CTA检查能评价TACE治疗中晚期肝癌患者的价值。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 中晚期肝癌; 甲胎蛋白; 经导管动脉化疗栓塞术; 寄生血管

核心提示: 本文以肝癌细胞高表达的特异性标志物甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)和影响肝细胞营养供应、癌细胞转移的寄生血管为目标,研究这两者的存在对中晚期肝癌患者行经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗效果的影响。本文报道高含量的AFP和有寄生血管存在能导致TACE治疗效果不良的重要因素,所以行TACE治疗时要检测AFP含量和寄生血管存在的情况。

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海峰, 王琳, 林志东, 谢协驹, 李孟森. AFP含量和寄生血管对中晚期肝癌患者TACE治疗的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(20): 1931-1938 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1931.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1931>

0 引言

肝癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤。在世界范围,每年有610000例死于肝癌^[1],我国是肝癌的高发区,发病约占世界的一半^[2],因而防治肝癌是我国医学领域的重要任务。由于肝癌恶性度高、发生过程隐蔽性强,所以临床诊断肝癌发生时,大多数肝癌已经进展到中晚期。临床观察已经证明中晚期肝癌的自然生存期一般为1-4 mo^[3,4]。肝癌细胞表达的甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)对肝癌细胞的恶性行为和肝癌的治疗效果有重大的影响,AFP升高是导致肝癌难治的一个重要因素^[5]。我们前期研究发现,AFP能促进肝癌细胞增殖,是诱导肝癌细胞表达Src和CXCR4的细胞因子^[6,7],而Src表达能促进癌细胞耐受药物作用,CXCR4表达则能导致癌细胞具有转移的特性,所以AFP表达的高低能预期肝癌治疗的效果,但是,应用AFP与肝癌寄生血管生成的关系以及评价肝癌的治疗效果报道较少。在临床上,由于中晚期肝癌患者肿瘤体积较大,同时多伴有转移,所以临床上常规采取保守治疗来延长患者生存期,目前公认首选的治疗方法是经导管动脉化疗栓塞术(transarterial che-

moembolization, TACE)^[8-10], 然而TACE治疗后患者生存期的差别很大, 有研究认为肝癌寄生血管是影响TACE疗效的重要因素之一^[11-14], 因此TACE治疗前后详细了解AFP含量以及肝癌寄生供血动脉状况有着非常重要的价值. 本研究分析中晚期肝癌患者血清AFP含量变化和肝癌寄生血管存在与TACE治疗效果的关联性, 为中晚期肝癌治疗的预期提供临床依据.

1 材料和方法

1.1 材料 2008-06/2011-06海南省农垦总医院肿瘤内科共有163例中晚期肝癌患者行TACE治疗, 其中男139例, 女24例, 年龄最小28岁, 最大84岁, 平均年龄60.6岁. 所有患者均按照2001版“原发性肝癌的临床诊断与分期标准^[15]”明确诊断为中晚期肝癌. 临床表现主要为上腹部不适、腹胀、食欲不振及肝区疼痛, 部分患者出现黄疸. 按照Child-Pugh分级^[16]: A级60例, B级92例, C级11例. 影像学表现巨块型113例(部分合并肝内子灶), 弥漫型24例, 结节型26例. 乙型肝炎病毒标志物一项或一项以上阳性143例. AFP阳性者131例, 水平在20-60000 ng/mL. 所有患者观察研究均得到海南农垦总医院医学伦理委员会批准.

1.2 方法

1.2.1 AFP检测: TACE治疗前1 wk内及治疗后每个月均抽血外周静脉血化验, 利用放射免疫法测定血清AFP值, 设定AFP含量<20 ng/mL为阴性, AFP含量≥20 ng/mL为阳性. 以患者TACE治疗前后AFP含量变化情况分为下降、上升及无明显变化, 其中治疗后AFP含量下降超过10%界定为下降, AFP含量上升超过10%界定为上升, AFP含量变化未超过10%界定为无明显变化.

1.2.2 影像学检查: 所有患者均以GE公司生产的64排螺旋CT行三期增强扫描, 扫描范围为膈顶至肾下极. 采用层厚5 mm, 层间距5 mm进行螺旋扫描, 延迟时间为肝动脉期25 s, 门静脉期60 s, 延迟期180 s, 扫描完成后把动脉期采集的原始数据行0.625 mm薄层重建后传至AW4.3工作站进行肝癌供血动脉CT血管造影(CT angiography, CTA), 重建方法为最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)及容积再现(volume rendering technique, VRT), 重点显示腹腔动脉、肝动脉及肿瘤血管, 并根据肿瘤生长部位及向周围累及情况, 选择性重建肠系膜上动脉、膈动脉、胃左动脉、胃右动脉、脾动脉、右肾动脉、右肾上腺下动脉、胸廓内动脉、右侧肋间动脉、右侧腹

壁上动脉及网膜动脉分支等, 明确肿瘤所有供血动脉的条数、走行及相互吻合情况.

1.2.3 治疗: TACE治疗在意大利生产Sias型C臂下进行, 采用Seldinger穿刺技术行股动脉穿刺插管, 根据CTA重建肿瘤供血动脉情况选用不同型号的导管, 先行肝动脉造影, 进一步确认肿瘤供血情况, 对于多条供血动脉的肝癌尽可能把所有供血动脉全部栓塞, 化疗药物选用5-氟尿嘧啶、丝裂霉素、栓塞剂为EADM与40%碘化油混合乳化剂, 患者行TACE次数为1-6次, 平均为3次. 经造影确认栓塞满意后, 结束治疗.

1.2.4 疗效观察: TACE治疗后要求患者每30 d返院系统复查一次并根据复查结果制定个体化治疗方案, 复查结果按WHO实体瘤客观疗效评定标准^[17], 分为完全缓解, 部分缓解, 无变化, 进展恶化, 并统计近期(治疗3 mo)客观有效率[完全缓解(complete response, CR)+部分缓解(partial response, PR)]; 所有患者均至少随访1年以上, 有效治疗的界定为生存1年以上; 无效治疗界定为无变化和进展恶化, 患者生存期在6 mo内.

统计学处理 本研究采用SPSS17.0临床上观察病例的各种数据均采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 TACE的治疗效果 治疗有效率. 经治疗1年后还存活, 认定为有效治疗. 163例患者至少随访1年, 在所有随访记录的患者中, 1年生存率为有效率79.1%(129/163).

2.2 血清AFP含量对TACE治疗的影响 放射酶联免疫法监测发现, 163例患者中有131例AFP阳性, 阴性32例. 在住院期间, 这131例AFP阳性的患者中, 经过TACE治疗后, 有82例血清AFP含量下降, 其治疗有效率为87.8%(72/82), 治疗无效率为12.2%(10/82); 有13例血清AFP含量升高, 其治疗有效率为30.7%(4/13), 治疗无效率为69.3%(9/13); 有36例血清AFP含量没有显著性改变, 其治疗有效率为58.3%(21/36), 治疗无效率为41.7%(9/13). 32例血清AFP含量阴性患者, 其治疗有效率为100%(32/32). 统计学分析显示, 治疗后AFP下降患者和AFP含量阴性患者的有效治疗率显著高于AFP升高者和AFP不变者($P<0.01$)(表1).

2.3 患者寄生血管供血动脉变异情况及其对TACE治疗的影响

2.3.1 CTA检查163例患者寄生血管供血动脉变异情况: CTA显示有56例共69支肝外血管参与肿

■ 相关报道

本文观察临床中晚期肝癌患者治疗前后AFP含量变化对TACE治疗效果的影响, 以及分析了AFP与肝癌组织寄生血管的相关性, 研究发现, AFP是一个非常重要的影响TACE治疗中晚期肝癌的重要因素, 可能的原因是AFP具有促进肝癌组织寄生血管生成的生物学作用.

■创新盘点

本文的研究结果证明AFP含量升高和寄生血管的存在是导致TACE治疗中晚期肝癌效果不良的因素,并证明AFP与寄生血管生成有相关性。所以在行TACE治疗中晚期肝癌时要监控患者AFP含量的变化来调整药物的使用剂量和治疗次数,同时利用靶向抑制AFP表达的生物药物是将来要考虑的手段。

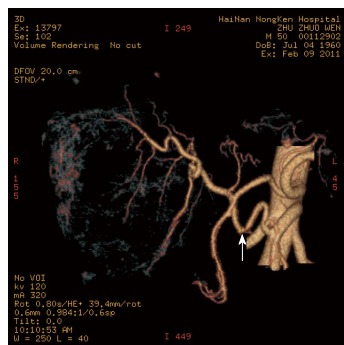


图1 CTA显示肝右动脉变异情况。患者行肝CTA检查后图像显示肝右动脉变异(箭头所示),该动脉变异发自肠系膜上动脉,肝右动脉明显增粗迂曲,肝右叶巨块性肝癌由肝右动脉供血,肿块内可见大量迂曲肿瘤血管。

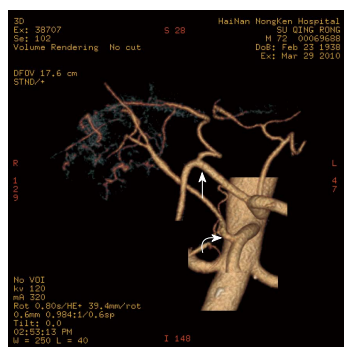


图2 CTA检查显示肝寄生血管对肝内固有供血血管的影响。肝CTA显示肝左内叶肿块由肝右动脉及肝中动脉共同供血,而且肝动脉可见变异,肝右动脉发自肠系膜上动脉(弯箭头所示),肝固有动脉较细小,肝中动脉发自肝固有动脉(直箭头所示),肝左动脉发自胃左动脉。

瘤供血,其中右膈动脉42支,胃左动脉7支,右肾上腺下动脉5支,胃右动脉4支,网膜动脉分支、胸廓内动脉及左膈动脉各3支,右侧腹壁上动脉1支,脾动脉1支。肝动脉起源变异25例,其中肝副左动脉起源于胃左动脉16支,肝副右动脉或替代肝右动脉起源于肠系膜上动脉9支。在本研究中,我们选择发自肠系膜上动脉的肝右动脉变异图显示肝癌寄生血管情况(图1)。在有寄生血管供血的肝癌病例中,我们选择行肝CTA显示异常动脉存在对肿瘤供血的影响,该肝右动脉发自肠系膜上动脉;结果显示肝左内叶肿块由肝右动脉及肝中动脉共同供血,可见肝动脉变异,肝内固有动脉较细小,供血降低(图2)。为了观察肝癌瘤体存在寄生血管对行TACE治疗时导管引导的影响,本研究在行TACE治疗前做CTA观察,结果显示由于寄生血管存在导致导管引导困难,药物无法顺利到达肿瘤内部,表现在瘤体内大量迂曲肿瘤血管,但腹腔干开口后明显狭窄,而且腹腔干与腹主动脉夹角明显变小,

表1 经TACE治疗前后AFP含量与有效治疗率的关系

分组	治疗有效(n)	治疗无效(n)	治疗有效率(%)
AFP阳性			
AFP下降	72	10	87.8 ^b
AFP上升	4	9	30.8 ^d
AFP不变	21	15	58.3 ^{td}
AFP阴性	32	0	100.0

^b $P < 0.01$ vs AFP上升组; ^d $P < 0.01$ vs AFP下降组; ^t $P < 0.01$ vs AFP上升组。AFP: 血清甲胎蛋白; TACE: 经导管动脉化疗栓塞术。

导管很难通过狭窄位置(图3A); CTA显示肝寄生血管可以指导TACE治疗,本研究选择与图2为同一病例作为观察对象,该患者行肝CTA检查结果显示肠系膜上动脉分支与肝固有动脉远端有交通支,因而在行TACE治疗时导管采用经肠系膜上动脉通过交通支进入肝右动脉(图3B),该患者治疗效果良好。寄生血管在肿瘤生长也发挥作用,在行TACE治疗时也要考虑栓塞寄生血管的供血,在本研究中,我们选择有寄生血管供血的患者在行TACE治疗前做CTA观察,有些患者显示瘤体除有肝动脉供血外,寄生血管也参与肿瘤供血,所以行TACE治疗时除常规栓塞肝动脉外还需栓塞寄生动脉(图3C)。在有寄生血管患者的治疗过程,通过肝内固有血管导管栓塞肝动脉外,还需要栓塞寄生动脉,采用这些方法能有效地把药物输送到瘤体,同时也能防治寄生动脉供血导致治疗效果不佳(图4A)。在本研究中,为了证明TACE治疗效果,我们用图1的同一病例,在患者行TACE治疗后1 mo复查时行CT增强扫描,发现肿块较前缩小,肿块内碘油聚集呈“集簇型”,肿块部分区域仍可见强化,提示因为有寄生血管存在,瘤体的供血丰富,尽管已经通过肝内固有供血动脉行TACE治疗,但是还没有达到栓塞瘤体的目的,提示患者仍需第二次TACE治疗,在第2次治疗时,我们考虑同时栓塞肝内固有供血动脉和寄生动脉(图4B)。采取双重栓塞后,治疗效果明显好转。

2.3.2 寄生血管存在对TACE治疗效果的影响: 随访记录中的56例有寄生血管供血患者1年生存率为41.1%(23/56), 107例无寄生血管供血患者1年生存率为78.5%(84/107), 经 χ^2 检验1年生存率,无寄生血管供血的患者1年生存率明显高于有寄生血管供血患者($P < 0.01$)。结果提示,肿瘤组织是否存在寄生血管仍然是影响患者生存率的重要因素之一(表2)。

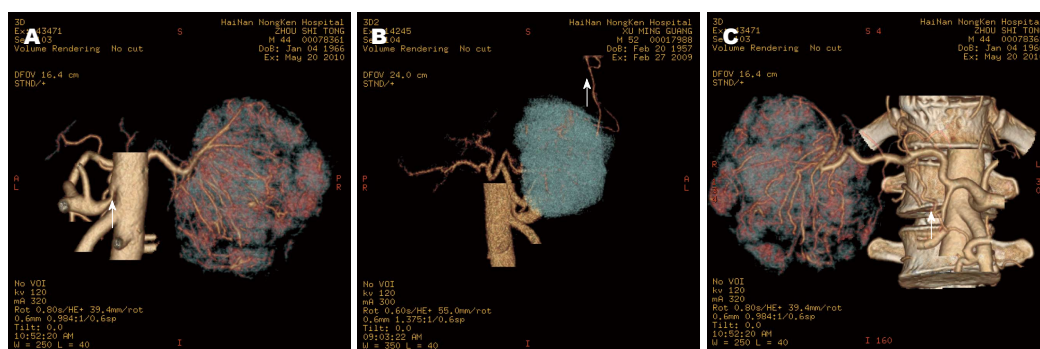


图 3 CTA检查显示肝右动脉寄生血管对TACE治疗的影响. A: 行CTA检查显示肝右动脉明显增粗迂曲, 肝右叶巨块性肝癌由肝右动脉供血, 肿块内可见大量迂曲肿瘤血管, 但腹腔干开口后明显狭窄(箭头所示), 而且腹腔干与腹主动脉夹角明显变小, 显示患者行TACE治疗时导管很难通过狭窄的腹腔干进入肝右动脉. B: CTA显示肝寄生血管指导TACE治疗. 与图2为同一病例, CTA检查显示肠系膜上动脉分支与肝固有动脉远端有交通支(箭头所示), 显示患者行TACE治疗时导管可经肠系膜上动脉通过交通支进入肝右动脉; C: CTA检查显示肝内寄生血管肝CTA显示肝左内叶肿块除有肝动脉供血外, 寄生血管(右侧内乳动脉)(箭头所示)也参与肿瘤供血, 显示TACE治疗时除常规栓塞肝动脉外还需栓塞寄生动脉. TACE: 经导管动脉化疗栓塞术.

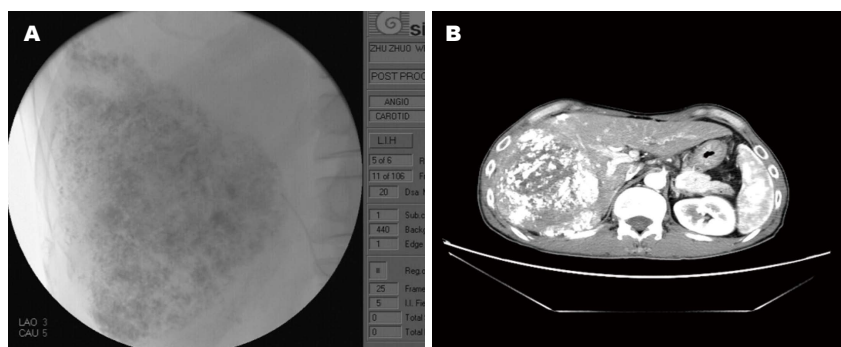


图 4 肝内寄生血管患者接受治疗时的Sias型C臂机器图像和CT增强扫描显示药物分布. A: 与图1同一病例. 患者正在行TACE时用Sias型C臂机器观察到的治疗引导图. B: 图1同一病例, 患者行TACE治疗后1 mo复查CT增强扫描, 可见肿块较前缩小, 肿体内碘油聚集呈“集簇型”, 肿体部分区域仍可见强化区域, 显示寄生血管供血影响TACE治疗时药物分布效果. TACE: 经导管动脉化疗栓塞术.

表 2 有寄生血管供血与无寄生血管供血患者的有效治疗率比较

分组	治疗有效(n)	治疗无效(n)	治疗有效率(%)
有寄生血管供血	23	33	41.1
无寄生血管供血	84	23	78.5 ^b

^b $P < 0.01$ vs 有寄生血管供血.

表 3 163例患者行经导管动脉化疗栓塞术治疗前AFP含量与寄生血管存在的相关性

分组	有寄生血管(n)	无寄生血管(n)	寄生血管阳性率(%)
AFP阳性	53	78	40.1 ^b
AFP阴性	3	29	9.4

^b $P < 0.01$ vs AFP阴性. AFP: 血清甲胎蛋白.

2.4 有寄生血管供血和患者血清AFP含量的关系 107例无寄生血管供血的患者TACE治疗前AFP含量阳性78例, 阴性29例. 在56例有寄生血管供血的病例中TACE治疗前AFP含量阳性53例, 阴性3例; AFP阳性患者有寄生血管率为40.1%(53/107), 而AFP阴性患者有寄生血管率为9.4%(3/32), AFP阳性患者和AFP阴性患者有寄生血管率比较, 有统计学差异($P < 0.01$), 提示患者AFP含量与肿瘤是否存在寄生血管有明显的相关性(表3).

3 讨论

AFP是肝癌细胞高表达的特异性肿瘤标志物, AFP表达可能与肝癌细胞的恶性行为密切相关. 经典理论认为, AFP是肝癌发生的伴随物质, 但是近期研究发现AFP不仅有抑制体内免疫能力, 也有促进肝癌细胞增殖的功能^[18,19], 我们研究也发现AFP是肝癌细胞耐受体内肿瘤坏死因子等生物药物和化学药物作用的关键细胞因子^[20,21], AFP能通过阻断Caspase3信号通路抑制凋亡信号的传递, AFP也能激活PI3K途径导致肝癌细胞

同行评价

本文有很好的学术和应用价值, 发现了AFP和有寄生血管存在是导致TACE治疗效果不良的重要因素, 对行TACE治疗中晚期肝癌患者有临床指导价值.

抗凋亡物质的细胞毒性作用^[22,23], 这些研究结果提示, AFP是肝癌细胞在体内赖以生存的重要细胞因子. 研究已经证明AFP阴性的肝癌患者, 经TACE治疗后存活率明显高于AFP阳性者^[24], 本研究结果显示, 对于中晚期肝癌患者, 行TACE治疗后, AFP阴性患者和AFP降低患者的治疗效果明显高于AFP升高和AFP不变患者, 从临床的整体水平上阐明肝癌细胞高表达AFP不仅是肝癌细胞耐药的关键因子, 也是影响药物治疗效果的重要因素.

肝癌瘤体的复杂血管供血影响TACE治疗效果. 研究已经证明, 肝癌的血供85%-90%来源于肝动脉^[11], 而正常肝组织的血供来自肝动脉的较少, 70%-75%由门静脉供应, 所以栓塞肝动脉可以有效阻断瘤体的血供, 而对正常肝组织影响较小, 并且经动脉注入化疗药物, 增高了瘤体部位的药物浓度, 由于药物浓度集中于瘤体, 对肿瘤细胞的杀灭作用效果更加明显, 同时也减少了患者全身的不良作用, 这是行TACE治疗中晚期肝癌的组织结构基础和优势所在. 已经有大量研究报道^[4,8,25,26]经过TACE为主的综合治疗, 患者的生存期及生存质量均有明显提高. 本研究结果显示, 同样是中晚期肝癌患者, 他们在接受TACE治疗后生存期的差别很大, 有寄生血管供血患者TACE治疗效果和治疗后1年存活率明显低于无寄生血管供血患者, 究其原因, 我们认为肝动脉解剖变异多、肝脏多源血供、门静脉供血以及肿瘤侧支循环等因素是导致复发率高, 远期疗效不良的主要原因之一. 因此, 在肝动脉化疗栓塞治疗中, 应熟悉肝动脉的解剖与变异, 积极寻找靶动脉, 尽可能超选择插管施行栓塞治疗, 以获得良好的疗效. 为了尽可能彻底地栓塞肝癌所有供血动脉, 在介入治疗过程中, 除常规行腹腔动脉、肠系膜上动脉造影外, 要扩大血管造影范围. 为减少漏栓, 部分学者推荐标准的血管造影的程序是: 腹主动脉造影→腹腔动脉造影→肠系膜上动脉造影→选择性肝动脉造影; 肠系膜上动脉→腹腔动脉→肝总动脉造影. 但无论何种程序, 操作均耗时, 对比剂用量大, 并且增加医患接受辐射剂量^[27]. 本研究充分发挥64层螺旋CT强大的软硬件及图像处理功能, 利用患者行肝脏CT增强扫描后的数据, 在不增加患者射线量及经济负担的前提下, 利用软件重建肝癌的所有供血动脉, 图像立体感强, 并可多方位旋转、多角度观察, 清晰显示肝癌供血动脉的起源与走向, 还可添加胸椎和腰

椎等标志性背景作为寻找肝癌供血动脉开口标志, 进而指导TACE导管的选择及介入治疗, 可直观地了解肿瘤的供血及侧支血管的来源及解剖关系, 从而可减少造影次数, 减少对比剂用量, 缩短手术时间, 降低医患辐射剂量, 提高介入治疗效果. 在我们的研究过程中, 由于考虑到治疗效果的原因, 有些患者需要行多次TACE治疗, 患者行TACE次数取决于治疗后AFP含量的变化和寄生血管数量, TACE次数过多或过少均对患者的病情控制不利, 所以TACE次数主要是由临床医生根据患者的AFP含量和寄生血管的数量决定的, 如果患者经过1次TACE, 其AFP含量下降到正常范围并且经过CTA显示寄生血管已消失, 这部分患者就不需要再进行TACE, 只需定期随访即可, 如果在随访过程中出现AFP升高或经过CTA显示寄生血管又出现, 就要求患者进行第2次TACE. 因此, 每一位患者的TACE次数取决于治疗后AFP含量的变化和寄生血管数量, 其效果用这两个指标来确定. 本研究采用CTA检查显示在163例中晚期肝癌患者中, 有56例共69支肝外血管参与肿瘤供血, 肝动脉起源变异25例, 均得到DSA证实, 符合率为100%, 说明在肝癌供血动脉的显示方面CTA可以完全代替DSA, 也是指导行TACE治疗前应开展CTA检查的有力依据.

肝癌在发生过程, 寄生血管的生成原因还不明确. 已有研究发现, AFP能促进胚胎时期和肿瘤瘤体的血管生成, 包括肝癌^[28-30]. 本研究分析显示, AFP的高表达与中晚期肝癌瘤体寄生血管的存在有密切的相关性. 研究已经发现, AFP激活EpCAM信号途径促进血管生成^[29], 我们前期研究发现, 肝癌细胞内AFP能与PTEN结合后抑制PTEN活性, 从而激发PI3K/AKT信号途径的信息传递^[23], PI3K/AKT是介导EpCAM信号的重要信息分子, 提示肝细胞在恶性的转化过程, AFP基因被激活后不仅能促进细胞增殖, 同时也能促进供血血管的生成, 这可能是本研究发现AFP与肝癌寄生血管供血的内在分子机制. 本研究结果还显示AFP和肝癌寄生血管存在是导致行TACE治疗效果不良的两个因素. 所以在中晚期肝癌患者行TACE治疗前后, 监测血清AFP含量变化和行CTA检查是很有必要的治疗步骤, 也提示AFP和肝癌寄生血管具有评价TACE治疗效果的重要价值.

4 参考文献

- 1 Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular

- carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1122-1132 [PMID: 21665892 DOI: 10.1093/carcin/bgr108]
- 2 Szymańska K, Chen JG, Cui Y, Gong YY, Turner PC, Villar S, Wild CP, Parkin DM, Hainaut P. TP53 R249S mutations, exposure to aflatoxin, and occurrence of hepatocellular carcinoma in a cohort of chronic hepatitis B virus carriers from Qidong, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1638-1643 [PMID: 19366907 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-1102]
 - 3 Wong H, Tang YF, Yao TJ, Chiu J, Leung R, Chan P, Cheung TT, Chan AC, Pang RW, Poon R, Fan ST, Yau T. The outcomes and safety of single-agent sorafenib in the treatment of elderly patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *Oncologist* 2011; 16: 1721-1728 [PMID: 22135121 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0192]
 - 4 Jin B, Wang D, Lewandowski RJ, Riaz A, Ryu RK, Sato KT, Larson AC, Salem R, Omary RA. Chemoembolization endpoints: effect on survival among patients with hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 919-928 [PMID: 21427346 DOI: 10.2214/AJR.10.4770]
 - 5 Riaz A, Ryu RK, Kulik LM, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Minocha J, Ibrahim SM, Sato KT, Baker T, Miller FH, Newman S, Omary R, Abecassis M, Benson AB, Salem R. Alpha-fetoprotein response after locoregional therapy for hepatocellular carcinoma: oncologic marker of radiologic response, progression, and survival. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5734-5742 [PMID: 19805671 DOI: 10.1200/JCO.2009.23.1282]
 - 6 Li M, Xie X, Fu S, Zhu M, Li G. Alpha-fetoprotein up-regulated the expression of c-Src in hepatoma cells is PTEN/AKT signaling pathway dependent or independent. *J Clin Oncol* 2010; 28: abstract e21061
 - 7 Li MS, Zhu MY, Zhou S, Xie XJ, Li G. α -fetoprotein is a novel inhibitor of RAR- β for regulating the expression of CXCR4 in hepatoma cells. *Hepatol Int* 2010; 4: abstract 289
 - 8 Kim JH, Yoon HK, Ko GY, Gwon DI, Jang CS, Song HY, Shin JH, Sung KB. Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: analysis of the response and prognostic factors after transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 2010; 255: 270-277 [PMID: 20308463 DOI: 10.1148/radiol.09091076]
 - 9 Pawlik TM, Reyes DK, Cosgrove D, Kamel IR, Bhagat N, Geschwind JF. Phase II trial of sorafenib combined with concurrent transarterial chemoembolization with drug-eluting beads for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3960-3967 [PMID: 21911714 DOI: 10.1200/JCO.2011.37.1021]
 - 10 Chung GE, Lee JH, Kim HY, Hwang SY, Kim JS, Chung JW, Yoon JH, Lee HS, Kim YJ. Transarterial chemoembolization can be safely performed in patients with hepatocellular carcinoma invading the main portal vein and may improve the overall survival. *Radiology* 2011; 258: 627-634 [PMID: 21273524 DOI: 10.1148/radiol.10101058]
 - 11 杨伟洪, 刘鹏程. MSCTA对肝癌寄生血管的评价及其对TACE的价值. *罕少疾病杂志* 2007; 14: 55-58
 - 12 Kim MU, Kim H, Chung JW, An S, Seong NJ, Jae HJ, Park JH. Hepatocellular carcinoma: prediction of blood supply from an intercostal artery with multidetector row computed tomography. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 1403-1408. e1 [PMID: 21763155 DOI: 10.1016/j.jvir.2011.05.009]
 - 13 姜在波, 单鸿, 黄明声, 李征然, 沈新颖, 关守海, 朱康顺. 多层螺旋CT显示肝癌寄生动脉在介入治疗中的意义. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1044-1047
 - 14 杨伟洪, 刘鹏程, 梁珊瑚, 袁知东, 余宏建, 邓乾华. 多层螺旋CT血管造影在判断肝癌寄生供血中的价值. *介入放射学杂志* 2008; 17: 654-656
 - 15 杨秉辉, 夏景林. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 324-325
 - 16 李琴, 王宝恩, 贾继东. 肝功能分级的演变及特点: 从Child到MELD. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 319-320
 - 17 张贺龙. 实体瘤疗效评价标准及演变. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 839-841
 - 18 Hung TM, Hu RH, Ho CM, Chiu YL, Lee JL, Jeng YM, Shih DT, Lee PH. Downregulation of alpha-fetoprotein expression by LHX4: a critical role in hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1815-1823 [PMID: 21965270 DOI: 10.1093/carcin/bgr219]
 - 19 Wang XW, Xu B. Stimulation of tumor-cell growth by alpha-fetoprotein. *Int J Cancer* 1998; 75: 596-599 [PMID: 9466662 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19980209)75]
 - 20 Li M, Zhou S, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha-Fetoprotein shields hepatocellular carcinoma cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Cancer Lett* 2007; 249: 227-234 [PMID: 17046153 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.09.004]
 - 21 Li M, Liu X, Zhou S, Li P, Li G. Effects of alpha fetoprotein on escape of Bel 7402 cells from attack of lymphocytes. *BMC Cancer* 2005; 5: 96 [PMID: 16080799 DOI: 10.1186/1471-2407-5-96]
 - 22 Li M, Li H, Li C, Zhou S, Guo L, Liu H, Jiang W, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human hepatoma cells. *Int J Cancer* 2009; 124: 2845-2854 [PMID: 19267404 DOI: 10.1002/ijc.24272]
 - 23 Li M, Li H, Li C, Wang S, Jiang W, Liu Z, Zhou S, Liu X, McNutt MA, Li G. Alpha-fetoprotein: a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2011; 128: 524-532 [PMID: 20473866 DOI: 10.1002/ijc.25373]
 - 24 Wang Y, Chen Y, Ge N, Zhang L, Xie X, Zhang J, Chen R, Wang Y, Zhang B, Xia J, Gan Y, Ren Z, Ye S. Prognostic significance of alpha-fetoprotein status in the outcome of hepatocellular carcinoma after treatment of transarterial chemoembolization. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 3540-3546 [PMID: 22532305 DOI: 10.1245/s10434-012-2368-5]
 - 25 Liu HQ, An JZ, Liu J, Yang YF, Zhang HX, Zhao BY, Li JB, Yang HS, Chen ZN, Xing JL. Leukocyte telomere length predicts overall survival in hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1040-1045 [PMID: 22318909 DOI: 10.1093/carcin/bgs098]
 - 26 Daniels JR. Overall survival after transarterial lipiodol infusion chemotherapy with or without embolization for unresectable hepatocellular carcinoma: propensity score analysis. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: W220 [PMID: 21257869 DOI: 10.2214/AJR.10.4558]
 - 27 林志东, 文宠佩, 符孔, 王邦浩. 肝癌肝外血管多层螺旋CT三维重建的临床应用. *介入放射学杂志* 2010; 19:

- 607-609
- 28 Liang OD, Korff T, Eckhardt J, Rifaat J, Baal N, Herr F, Preissner KT, Zygmunt M. Oncodevelopmental alpha-fetoprotein acts as a selective proangiogenic factor on endothelial cell from the fetomaternal unit. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1415-1422 [PMID: 15001643 DOI: 10.1210/jc.2003-031721]
- 29 Koide N, Nishio A, Igarashi J, Kajikawa S, Adachi W, Amano J. Alpha-fetoprotein-producing gastric cancer: histochemical analysis of cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1658-1663 [PMID: 10364040 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01158.x]
- 30 Shan YF, Huang YL, Xie YK, Tan YH, Chen BC, Zhou MT, Shi HQ, Yu ZP, Song QT, Zhang QY. Angiogenesis and clinicopathologic characteristics in different hepatocellular carcinoma subtypes defined by EpCAM and α -fetoprotein expression status. *Med Oncol* 2011; 28: 1012-1016 [PMID: 20571936 DOI: 10.1007/s12032-010-9600-6]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理.

3 版权

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

BRCA1在胃癌中的研究进展

钟国栋, 余英豪

钟国栋, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025
钟国栋, 主要从事肿瘤病理诊断及消化系统肿瘤的基础应用研究.
福建省创新创业训练计划基金资助项目, No. 31
作者贡献分布: 本文综述由钟国栋完成; 余英豪负责审校.
通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科.
yuyinghao0808@126.com
收稿日期: 2013-04-16 修回日期: 2013-05-18
接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Progress in research of the BRCA1 gene in gastric cancer

Guo-Dong Zhong, Ying-Hao Yu

Guo-Dong Zhong, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Supported by: the College Student Innovative Research Foundation of Fujian Province, No. 31
Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com
Received: 2013-04-16 Revised: 2013-05-18
Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

Chemotherapy occupies an important position in the treatment of gastric cancer. Platinum drugs are commonly chemotherapy drugs for gastric cancer; however, sensitivity to these drugs varies among different patients. The breast cancer susceptibility gene 1 (*BRCA1*) is a tumor suppressor gene that is associated with sensitivity to platinum drugs. At present, the research on the *BRCA1* gene is mainly focused on breast cancer, and there have been fewer studies on gastric cancer. This paper will give an overview of the structure and function of the *BRCA1* gene and the relationship between *BRCA1* and gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Breast cancer susceptibility gene 1

Zhong GD, Yu YH. Progress in research of the *BRCA1* gene

in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1939-1944 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1939.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1939>

摘要

化疗在胃癌的治疗中占有重要地位, 铂类药物是常用的胃癌化疗药物之一, 不同个体对铂类药物的敏感性差异很大. 乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene 1, *BRCA1*)是一种抑癌基因, 与铂类药物的敏感性有关. 目前针对*BRCA1*的研究多集中于乳腺癌方面, 而在胃癌中的研究很少. 本文就*BRCA1*的结构与功能, *BRCA1*与胃癌关系的相关研究进展进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 乳腺癌易感基因1

核心提示: 乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene 1, *BRCA1*)参与胃癌的发生, 并与胃癌的分化、分期、预后有密切关系. *BRCA1*的表达水平可作为以铂类为基础的药物化疗的胃癌患者生存时间的预测分子.

钟国栋, 余英豪. *BRCA1*在胃癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1939-1944 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1939.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1939>

0 引言

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 在我国胃癌的发病率居恶性肿瘤的第2位, 死亡率居恶性肿瘤死因的第3位^[1]. 迄今我国胃癌患者术后5年生存率较低, 多数患者术后还需接受化疗、放疗等综合治疗, 化疗在胃癌的治疗中占有重要地位^[2]. 铂类药物是常用的胃癌化疗药物之一, 不同个体对铂类药物的敏感性差异很大. 研究表明乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene 1, *BRCA1*)与铂类药物的敏感性有关, 目前针对*BRCA1*的研究多集中于乳腺癌方面, 而在胃癌中的研究很少. 本文就近年来*BRCA1*在

■背景资料

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 铂类药物是常用的胃癌化疗药物, 乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene 1, *BRCA1*)与铂类药物的敏感性有关. 目前针对*BRCA1*的研究多集中于乳腺癌方面, 而在胃癌中的研究很少.

■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科; 于颖彦, 教授, 瑞金医院消化外科研究所与器官移植中心

■ 研发前沿

*BRCA1*是乳腺癌的易感基因与胃癌的发生、分化、分期、预后及治疗均具有密切关系,但是具体机制还不是很清楚。

胃癌的研究进展进行综述。

1 *BRCA1*的结构与功能

*BRCA1*基因是1990年Hall等^[3]通过对23个乳腺癌家族进行基因连锁分析发现的与家族性乳腺癌有关的易感基因。而后Narod等^[4]调查了5个遗传性乳腺癌/卵巢癌大家族,进一步验证了Hall等^[3]的发现。1994年Miki等^[5]通过采用定位克隆的方法分离出*BRCA1*基因,后被命名为*BRCA1*。

1.1 *BRCA1*蛋白的结构 *BRCA1*定位于染色体17q21 D17S1321-D17S1325之间,长约81 kb,共有24个外显子,第1,4号外显子不编码氨基酸,第11号外显子最长,约3.4 kb,占整个编码区的60%。*BRCA1*基因编码一个含1863个氨基酸的核蛋白,称为*BRCA1*蛋白,其分子量为220 kb。*BRCA1*蛋白具有以下特征性结构域^[6]: (1)N-端的锌指结构,该结构富含半胱氨酸和组氨酸,是蛋白质-蛋白质或蛋白质-DNA相互作用的主要功能域^[7]; (2)核定位区,负责编码两个核定位信号(NSL1和NSL2),是*BRCA1*核转运所必需的。外显子11的编码产物中含有非常重要的NLS蛋白,其突变所致的截短蛋白缺乏NLS,可致*BRCA1*蛋白的转运失败,引起核内*BRCA1*蛋白缺失,而在细胞浆中错位表达; (3)Rad51结合区,与DNA损伤修复蛋白Rad51结合,参与DNA损伤修复过程; (4)粒素区,位于1214-1223氨基酸残基之间; (5)BRCT区, C-端含有2个长85-95个氨基酸残基的BRCT基序,中心部分为保守的疏水氨基酸。该功能区普遍存在于DNA修复和细胞周期调控相关蛋白中,对细胞周期监控、转录激活、DNA损伤修复起重要作用。*BRCA1*中多数与肿瘤相关的突变均可导致BRCT功能缺失^[8]; (6)转录活性区,*BRCA1*蛋白C-端富含酸性氨基酸,提示该区具有转录激活作用。

1.2 *BRCA1*蛋白的功能 *BRCA1*蛋白具有抑制肿瘤生长的作用。*BRCA1*蛋白不仅参与细胞周期调控、DNA损伤修复、基因转录及细胞凋亡等多种重要细胞活动,而且在维持基因组稳定性中起重要作用^[9-12]。*BRCA1*基因若发生突变,将导致其编码的基因产物结构或功能的异常,并失去原有的功能,最终将可能导致肿瘤的发生。

1.2.1 参与细胞周期调控:正常情况下, *BRCA1*蛋白可与细胞周期素依赖性激酶及细胞周期素A、周期素D结合,随细胞周期时相变化,呈现磷酸化和去磷酸化两种状态的互换,即在G₁晚期和S期呈现高度磷酸化状态,在M期后转为去

磷酸化状态^[13,14]。已有研究表明*BRCA1*在细胞周期调控中起着重要作用^[15]。在G₁/S期, *BRCA1*以锌指结构域作为蛋白质-蛋白质相互作用的主要作用域,通过转录因子E2F的作用和细胞周期蛋白CDKS复合物的磷酸化,抑制细胞进入增殖期,阻止细胞分裂,诱发细胞凋亡。*BRCA1*能与p53蛋白直接结合,并通过p53激活P21的转录, p21作为细胞周期抑制因子抑制CyclinE-CDK2的活性,从而引起G₁期阻滞^[16]。虽然有研究表明*BRCA1*上调p21的表达并不依赖于p53的存在^[17],但是也有研究表明*BRCA1*诱导的G₁/S细胞周期停滞需要p53的参与。

1.2.2 参与DNA损伤修复: DNA损伤时, *BRCA1*能阻断细胞周期使其停留在特定的检测点,在*BRCA1*的招募下,多个修复蛋白形成复合体,目前发现较重要的通路与蛋白复合体有3个^[18-21]。(1)ATR-TopBP1通路。双链DNA因紫外线损伤,引起ATR发生磷酸化,激活下游基因*Chk2*。*Chk2*能磷酸化*BRCA1*,磷酸化的*BRCA1*作为一个信号因子将感知的DNA损伤信号传递给DNA修复体系,从而调节DNA双链的断裂与修复^[22]。同时*Chk2*使G₂/M期细胞阻滞,使DNA在尚未进入分裂之前得到修复^[23]; (2)*BRCA1*-RAD-50-MRE11-NSB1聚体。DNA损伤时, *BRCA1*可与R-M-N复合物相互作用^[24],通过同源重组(homologous recombination repair, HRR)和非同源末端连接(non-homologous end-joining, NHEJ)两条途径协调DNA损伤修复; (3)*BRCA1*-*BRCA2*-RAD51三聚体。DNA受损时, *BRCA1*复合物可能通过HRR途径参与DNA修复功能^[25,26]。De Nicolo等^[27]研究显示*BRIP1*/*BACH1*编码的蛋白质产物能与BRCT重复序列直接结合发生作用,参与*BRCA1*基因的DNA损伤和修复过程。

1.2.3 参与转录调控: *BRCA1*蛋白具有转录活化和转录抑制双重作用, N-端的锌指结构具有DNA结合功能, C-端的“酸性基团”具有反向激活功能^[28]。Mullan等^[29]认为*BRCA1* C-末端酸性基团可与GAL4 DNA结合,激活GAL4依赖的启动子转录,但是*BRCA1*只能非特异性结合DNA序列,其转录活性依赖特异性结合DNA的转录因子作为导向。*BRCA1*与某些转录因子或转录调节因子互相作用可增强或抑制这些因子的转录。如*BRCA1*可作为p53辅激分子,通过外显子11(氨基酸224-500)和BRCT结构域上(氨基酸1760-1863)两个结合位点直接结合p53,选择性增强与DNA修复和细胞周期阻滞有关的基因^[30],

而p53也能反过来抑制BRCA1的表达, 借此达到稳定自身的作用^[31]. BRCA1还可与C-myc结合, 抑制C-myc对端粒酶反转录酶(hTERT)的转录调节^[32]. 此外, BRCA1还可与CtIP、CtBP等因子相互作用, 调节下游基因的转录活性, 发挥不同的功能.

1.2.4 中心体的复制: BRCA1与负责微管及有丝分裂纺锤体形成的 γ -微球蛋白相互作用, 在中心体复制中起负性调节作用^[33]. *BRCA1*基因突变可导致中心体扩增, 染色体不对称分离, 非整倍体增加, 最终可能导致肿瘤形成. 因此, BRCA1是维持染色体稳定的必需基因, 在有丝分裂中具有重要作用.

2 *BRCA1*在胃癌中研究

2.1 *BRCA1*与胃癌发生的关系 胃癌的发生是多基因多步骤的病理过程, 该过程涉及多种原癌基因的激活和抑癌基因的失活. 目前研究表明, 抑癌基因的失活在肿瘤的发展中所起的作用可能比原癌基因的活化更常见、更重要. *BRCA1*是抑癌基因, *BRCA1*基因编码的BRCA1蛋白有抑制肿瘤生长的作用, 在维持基因组稳定性中起重要作用. 当*BRCA1*发生基因突变使其蛋白表达结构异常或表达水平下降, 或由于其他原因使BRCA1正常功能减弱或消失, 可能导致细胞恶变和胃癌的发生^[34,35].

陈永宏等^[36]通过检测61例胃癌组织与正常组织中BRCA1的表达, 发现胃癌组织中BRCA1蛋白表达率比正常组织表达率显著降低. Kim等^[37]通过对318例接受手术治疗与D2根治术胃癌患者*BRCA1*基因表达检测, 发现其中155例胃癌患者(48.7%)BRCA1是阴性表达、96例胃癌患者(30.2%)低表达、67例胃癌患者(21.0%)高表达. 但也有研究表明胃癌的发生与BRCA1的过表达有关, 且随着原发肿瘤向深处的浸润, BRCA1蛋白阳性表达率无显著性差异. 提示胃黏膜一旦发生癌变, 即可获得稳定的BRCA1蛋白表达^[38]. 此外, Moiseyenko等^[39]研究认为胃癌可能是BRCA1相关的遗传性肿瘤综合征.

启动子异常甲基化是抑癌基因失活的一个重要机制, 主要发生在启动子CpG岛内. 在正常情况下这些位点处于完全未甲基化状态, CpG岛发生异常甲基化往往会改变基因的表达模式, 导致抑癌基因的转录失活或沉默. 失活的抑癌基因不能负调控细胞周期增殖, 使细胞周期进展得以进行, 从而导致细胞恶性改变, 形成肿瘤^[40,41].

目前研究表明, *BRCA1*基因5'端启动子CpG岛异常甲基化, 使得该区域的组蛋白去乙酰化且核小体在空间排列上更加均匀致密, 这种状态会直接抑制转录, 增强转录抑制蛋白的作用, 使基因转录失活而失表达. Zavala等^[42]通过采用分层聚类的方法对83例浸润性胃癌抑制基因甲基化进行研究, 结果表明在胃癌中*BRCA1*发生高频甲基化, 但是抑癌基因指数与胃癌临床病理特征无明显相关. 启动子异常甲基化是肿瘤发生的早期事件^[43], 具有细胞和组织特异性. Bernal等^[44]研究发现*BRCA1*甲基化可能与早发性胃癌有关.

基因的遗传不稳定性改变, 可导致抑癌基因功能障碍或缺失, 是引起肿瘤发生的重要因素之一. 基因的微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)和杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)是胃肠道肿瘤常见的遗传改变. Chen等^[45]通过检测37例胃癌组织和相应的非胃癌组织中*BRCA1*基因的MSI和LOH, 显示BRCA1的MSI与LOH与胃癌的TNM分期有密切相关, *BRCA1*基因MSI在TNM I-II期胃癌病例中的阳性率远高于TNM III-IV期病例, 而*BRCA1*基因LOH在胃癌TNM I-II期病例中的阳性率低于TNM III-IV期病例, 但两者与淋巴结转移, 组织学类型或肿瘤分化无明显关系. 因此, *BRCA1*基因MSI可作为散发性胃癌早期的一个分子标志, LOH可以作为散发性胃癌晚期的一个预后因子. BRCA1蛋白表达与TNM分期、胃癌的分化有关. BRCA1蛋白在TNM I+II期中的阳性率远高于TNM III+IV期病例. BRCA1蛋白的表达与胃癌分化程度呈正相关, 随着管状腺癌分化程度的升高, 其阳性率呈明显增高趋势, 这提示BRCA1蛋白可改善患者预后, 并可能具有抑制胃癌向低分化发展的作用. Zhang等^[46]研究发现BRCA1表达缺失与胃癌的扩散、分期有关, 而且BRCA1表达缺失的胃癌患者比BRCA1未缺失患者的生存期明显要短. 提示BRCA1表达缺失可能可作为胃癌进展的预测因子. Chen等^[47]通过检测637例胃癌手术标本的BRCA1蛋白, 发现其中有219例胃癌标本BRCA1表达阳性, 且BRCA1表达与肿瘤分化有明显相关. 此外, 也有实验表明BRCA1、TRF1、TRF2、TIN2、TERT和KU70蛋白的表达与端粒缩短有关, 并可能导致胃癌的多阶段癌变^[48], 这个发现可能是胃癌形成的新机制.

2.2 *BRCA1*与铂类药物敏感性的关系 铂类药物(顺铂和草酸铂)是目前胃癌化疗常用的药物

■ 相关报道

本文发现*BRCA1*表达缺失与胃癌的扩散、分期有关, 而且*BRCA1*表达缺失的胃癌患者比*BRCA1*未缺失患者的生存期明显要短.

■创新盘点

本文内容新颖, 涉及BRCA1表达缺失与胃癌的扩散、分期有关的内容, 对基础研究和临床应用均有较重要的指导价值。

之一。铂类药物进入肿瘤细胞后水解为双氯双氨铂, 由氯化物配合体所形成的水合物可以与细胞大分子的亲核性位点相作用, 并在细胞的DNA中形成Pt-DNA复合物, 导致DNA的链间或链内交链, 主要是1,2链间交联, 少数为1,3链间交联、长链交联以及DNA-蛋白交联, 引起DNA复制障碍、RNA转录抑制, 阻碍细胞停滞于G₂期。这些停滞的细胞或进行DNA损伤修复或发生凋亡^[49-52]。BRCA1作为一种负性调控因子参与细胞周期检测点的调节并可通过形成多种复合物参与DNA修复。BRCA1高表达使细胞修复能力增强, 使肿瘤细胞不易被顺铂杀死, 从而影响顺铂的耐药性^[53,54]。

低表达BRCA1的胃癌患者无病生存期(disease-free survival, DFS)和总生存期(overall survival, OS)明显降低, 而BRCA1表达阴性的胃癌患者预后更差。铂类辅助化疗能延长BRCA1阴性患者的DFS和OS, 但不能延长BRCA1阳性患者^[37]。然而也有研究认为BRCA1表达阳性患者接受铂的辅助化疗显示更好的预后。张文君等^[55]通过对74例采用5-氟尿嘧啶+草酸铂为主的化疗方案的胃癌患者进行研究, 结果显示BRCA1基因的表达水平与顺铂敏感性呈负相关, 低表达BRCA1的患者接受铂类化疗后生存时间较高表达的患者有延长趋势。Shim等^[56]通过对200例应用顺铂和紫杉烷类药物治疗的患者进行研究, 发现BRCA1 TT纯合子突变能显著延长患者总体生存率和存活期, 并提出BRCA1 TT基因型可能适度成为进展期胃癌的预后标志物。因此, 在某种程度上BRCA1的表达水平可作为以铂类为基础的药物化疗的胃癌患者生存时间的预测分子。

3 结论

BRCA1与胃癌的发生、分化、分期、预后及治疗均具有密切关系, 通过检测BRCA1的表达情况可用于指导胃癌的个体化治疗以及生存期的预测。因此明确BRCA1在胃癌中的作用机制, 以适应肿瘤治疗的需要, 为肿瘤的防治提供新方法, 将成为今后值得进一步深入研究的问题。

4 参考文献

- 1 邹小农, 孙喜斌, 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 代珍, 刘卫东, 赵德利. 2003-2007年中国胃癌发病与死亡情况分析. 肿瘤 2012; 32: 109-114
- 2 崔成旭, 杨林, 王竞, 王金万. 胃癌的化学治疗. 中国全科医学 2004; 22: 1637-1639 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2004.22.004]
- 3 Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Ander-

son LA, Huey B, King MC. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250: 1684-1689 [PMID: 2270482 DOI: 10.1126/science.2270482]

- 4 Narod SA, Feunteun J, Lynch HT, Watson P, Conway T, Lynch J, Lenoir GM. Familial breast-ovarian cancer locus on chromosome 17q12-q23. *Lancet* 1991; 338: 82-83 [PMID: 1676470 DOI: 10.1097/00006254-199203000-00017]
- 5 Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994; 266: 66-71 [PMID: 7545954 DOI: 10.1126/science.7545954]
- 6 杨丹. BRCA1和P53在卵巢上皮性癌中的表达及意义. 吉林大学, 2011
- 7 Atipairin A, Canyuk B, Ratanaphan A. Substitution of aspartic acid with glutamic acid at position 67 of the BRCA1 RING domain retains ubiquitin ligase activity and zinc(II) binding with a reduced transition temperature. *J Biol Inorg Chem* 2011; 16: 217-226 [PMID: 20967475 DOI: 10.1007/s00775-010-0718-y]
- 8 Shiozaki EN, Gu L, Yan N, Shi Y. Structure of the BRCT repeats of BRCA1 bound to a BACH1 phosphopeptide: implications for signaling. *Mol Cell* 2004; 14: 405-412 [PMID: 15125843]
- 9 Deng CX. BRCA1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 1416-1426 [PMID: 16522651 DOI: 10.1093/nar/gkl010]
- 10 De Siervi A, De Luca P, Byun JS, Di LJ, Fufa T, Haggerty CM, Vazquez E, Moiola C, Longo DL, Gardner K. Transcriptional autoregulation by BRCA1. *Cancer Res* 2010; 70: 532-542 [PMID: 20068145 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1477]
- 11 Morris JR, Boutell C, Keppler M, Densham R, Weekes D, Alamshah A, Butler L, Galanty Y, Pangon L, Kiuchi T, Ng T, Solomon E. The SUMO modification pathway is involved in the BRCA1 response to genotoxic stress. *Nature* 2009; 462: 886-890 [PMID: 20016594 DOI: 10.1038/nature08593]
- 12 Ciechanover A. Intracellular protein degradation: from a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting. *Exp Biol Med* (Maywood) 2006; 231: 1197-1211 [PMID: 16816126 DOI: 10.1159/000334283]
- 13 Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes, 2005. *Mutat Res* 2005; 577: 275-283 [PMID: 15922366 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2005.03.007]
- 14 Pal T, Permuth-Wey J, Betts JA, Krischer JP, Fiorica J, Arango H, LaPolla J, Hoffman M, Martino MA, Wakeley K, Wilbanks G, Nicosia S, Cantor A, Sutphen R. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer* 2005; 104: 2807-2816 [PMID: 16284991]
- 15 Yun MH, Hiom K. Understanding the functions of BRCA1 in the DNA-damage response. *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 597-604 [PMID: 19442256 DOI: 10.1042/BST0370597]
- 16 Fabbro M, Savage K, Hobson K, Deans AJ, Powell SN, McArthur GA, Khanna KK. BRCA1-BARD1 complexes are required for p53Ser-15 phosphorylation and a G1/S arrest following ionizing radiation-induced DNA damage. *J Biol Chem* 2004; 279: 31251-31258 [PMID: 15159397 DOI: 10.1074/jbc.

- M405372200]
- 17 Somasundaram K, Zhang H, Zeng YX, Houvras Y, Peng Y, Zhang H, Wu GS, Licht JD, Weber BL, El-Deiry WS. Arrest of the cell cycle by the tumour-suppressor BRCA1 requires the CDK-inhibitor p21WAF1/Cip1. *Nature* 1997; 389: 187-190 [PMID: 9296497]
- 18 罗娟娟. BRCA1与乳腺癌. 河南医学研究 2011; 20: 382-284
- 19 Ziogas D, Liakakos T, Lykoudis E, Fatourou E, Roukos DH. Exploring the role of BRCA1, BRCA2 and RAD51 as biomarkers for breast cancer. *Radiother Oncol* 2009; 90: 161-162 [PMID: 18343512 DOI: 10.1016/j.radonc.2008.02.020]
- 20 Tommiska J, Bartkova J, Heinonen M, Hautala L, Kilpivaara O, Eerola H, Aittomäki K, Hofstetter B, Lukas J, von Smitten K, Blomqvist C, Ristimäki A, Heikkilä P, Bartek J, Nevanlinna H. The DNA damage signalling kinase ATM is aberrantly reduced or lost in BRCA1/BRCA2-deficient and ER/PR/ERBB2-triple-negative breast cancer. *Oncogene* 2008; 27: 2501-2506 [PMID: 17982490 DOI: 10.1038/sj.onc.1210885]
- 21 Weberpals JI, Clark-Knowles KV, Vanderhyden BC. Sporadic epithelial ovarian cancer: clinical relevance of BRCA1 inhibition in the DNA damage and repair pathway. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3259-3267 [PMID: 18591560 DOI: 10.1200/JCO.2007.11.3902]
- 22 Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet* 2001; 27: 247-254 [PMID: 11242102]
- 23 Zhang J, Willers H, Feng Z, Ghosh JC, Kim S, Weaver DT, Chung JH, Powell SN, Xia F. Chk2 phosphorylation of BRCA1 regulates DNA double-strand break repair. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 708-718 [PMID: 14701743 DOI: 10.1128/MCB.24.2.708-718.2004]
- 24 Paull TT, Cortez D, Bowers B, Elledge SJ, Gellert M. Direct DNA binding by Brca1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 6086-6091 [PMID: 11353843 DOI: 10.1073/pnas.111125998]
- 25 Hashizume R, Fukuda M, Maeda I, Nishikawa H, Oyake D, Yabuki Y, Ogata H, Ohta T. The RING heterodimer BRCA1-BARD1 is a ubiquitin ligase inactivated by a breast cancer-derived mutation. *J Biol Chem* 2001; 276: 14537-14540 [PMID: 11278247 DOI: 10.1074/jbc.C000881200]
- 26 Westermarck UK, Reyngold M, Olshen AB, Baer R, Jasin M, Moynahan ME. BARD1 participates with BRCA1 in homology-directed repair of chromosome breaks. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7926-7936 [PMID: 14560035 DOI: 10.1128/MCB.23.21.7926-7936.2003]
- 27 De Nicolo A, Tancredi M, Lombardi G, Flemma CC, Barbuti S, Di Cristofano C, Sobhian B, Bevilacqua G, Drapkin R, Caligo MA. A novel breast cancer-associated BRIP1 (FANCJ/BACH1) germ-line mutation impairs protein stability and function. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4672-4680 [PMID: 18628483 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0087]
- 28 Di LJ, Fernandez AG, De Siervi A, Longo DL, Gardner K. Transcriptional regulation of BRCA1 expression by a metabolic switch. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 1406-1413 [PMID: 21102443 DOI: 10.1038/nsmb.1941]
- 29 Mullan PB, Quinn JE, Harkin DP. The role of BRCA1 in transcriptional regulation and cell cycle control. *Oncogene* 2006; 25: 5854-5863 [PMID: 16998500 DOI: 10.1038/sj.onc.1209872]
- 30 MacLachlan TK, Takimoto R, El-Deiry WS. BRCA1 directs a selective p53-dependent transcriptional response towards growth arrest and DNA repair targets. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 4280-4292 [PMID: 12024039 DOI: 10.1128/MCB.22.12.4280-4292.2002]
- 31 Arizti P, Fang L, Park I, Yin Y, Solomon E, Ouchi T, Aaronson SA, Lee SW. Tumor suppressor p53 is required to modulate BRCA1 expression. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 7450-7459 [PMID: 11003642 DOI: 10.1128/MCB.20.20.7450-7459.2000]
- 32 Zhou C, Liu J. Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by BRCA1 in human ovarian cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 130-136 [PMID: 12646176 DOI: 10.1016/s0006-291X(03)00318-8]
- 33 Stolz A, Ertych N, Bastians H. Loss of the tumour-suppressor genes CHK2 and BRCA1 results in chromosomal instability. *Biochem Soc Trans* 2010; 38: 1704-1708 [PMID: 21118151 DOI: 10.1042/BST0381704]
- 34 Metcalfe KA, Lubinski J, Ghadirian P, Lynch H, Kim-Sing C, Friedman E, Foulkes WD, Domchek S, Ainsworth P, Isaacs C, Tung N, Gronwald J, Cummings S, Wagner T, Manoukian S, Møller P, Weitzel J, Sun P, Narod SA. Predictors of contralateral prophylactic mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation: the Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1093-1097 [PMID: 18195327 DOI: 10.1200/JCO.2007.12.6078]
- 35 Rakha EA, El-Sheikh SE, Kandil MA, El-Sayed ME, Green AR, Ellis IO. Expression of BRCA1 protein in breast cancer and its prognostic significance. *Hum Pathol* 2008; 39: 857-865 [PMID: 18400253 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.10.011]
- 36 陈永宏, 陈一民, 廖晓丹. BRCA1在胃癌组织中的表达. 中国医学创新 2010; 7: 61-62
- 37 Kim JW, Cho HJ, Kim M, Lee KH, Kim MA, Han SW, Oh DY, Lee HJ, Im SA, Kim TY, Yang HK, Kim WH, Bang YJ. Differing effects of adjuvant chemotherapy according to BRCA1 nuclear expression in gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71: 1435-1443 [PMID: 23633032]
- 38 高福平. Her-2、P63、BRCA1在胃癌中的表达及意义. 苏州大学, 2012
- 39 Moiseyenko VM, Volkov NM, Suspistin EN, Yanus GA, Iyevleva AG, Kuligina ESh, Togo AV, Kornilov AV, Ivantsov AO, Imyanitov EN. Evidence for predictive role of BRCA1 and bTUBIII in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 545 [PMID: 23532817 DOI: 10.1007/s12032-013-0545-4]
- 40 Comings DE, Gade-Andavolu R, Cone LA, Muhleman D, MacMurray JP. A multigene test for the risk of sporadic breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 2160-2170 [PMID: 12712467 DOI: 10.1002/cncr.11340]
- 41 Bernard-Gallon DJ, Déchelotte PJ, Le Corre L, Vissac-Sabatier C, Favy DA, Cravello L, De Latour MP, Bignon YJ. Expression of BRCA1 and BRCA2 in male breast cancers and gynecomastias. *Anticancer Res* 2003; 23: 661-667 [PMID: 12680164]
- 42 Zavala G L, Luengo J V, Ossandón C F, Riquelme S E, Backhouse E C, Palma V M, Argandoña C J, Cumsille MA, Corvalán R A. [Hierarchical clustering analysis to detect associations between clinical and pathological features of gastric tumors and hypermethylation of suppressor genes]. *Rev Med Chil* 2007; 135: 17-25 [PMID: 17369979]

■应用要点

本文总结了目前BRCA1参与胃癌发生可能的机制, 并指出尚存争议及未阐明的问题, 为进一步深入研究胃癌发病机制提供了方向。

■同行评价

本文立意新颖, 相关报道不多, 文章的科学性、创新性和可读性可以较好地反映我国结直肠癌临床和基础研究的先进水平。

- 43 Esteller M. Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 629-656 [PMID: 15822191 DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095832]
- 44 Bernal C, Vargas M, Ossandón F, Santibáñez E, Urrutia J, Luengo V, Zavala LF, Backhouse C, Palma M, Argandoña J, Aguayo F, Corvalán A. DNA methylation profile in diffuse type gastric cancer: evidence for hypermethylation of the BRCA1 promoter region in early-onset gastric carcinogenesis. *Biol Res* 2008; 41: 303-315 [PMID: 19399343 DOI: 10.4067/S0716-97602008000300007]
- 45 Chen XR, Zhang WZ, Lin XQ, Wang JW. Genetic instability of BRCA1 gene at locus D17S855 is related to clinicopathological behaviors of gastric cancer from Chinese population. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4246-4249 [PMID: 16830385]
- 46 Zhang ZZ, Liu YJ, Yin XL, Zhan P, Gu Y, Ni XZ. Loss of BRCA1 expression leads to worse survival in patients with gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1968-1974 [PMID: 23569343 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1968]
- 47 Chen W, Wang J, Li X, Li J, Zhou L, Qiu T, Zhang M, Liu P. Prognostic significance of BRCA1 expression in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 423 [PMID: 23292835 DOI: 10.1007/s12032-012-0423-5]
- 48 Hu H, Zhang Y, Zou M, Yang S, Liang XQ. Expression of TRF1, TRF2, TIN2, TERT, KU70, and BRCA1 proteins is associated with telomere shortening and may contribute to multistage carcinogenesis of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1407-1414 [PMID: 20127252 DOI: 10.1007/s00432-010-0795-x]
- 49 Rosell R, Lord RV, Taron M, Reguart N. DNA repair and cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 38: 217-227 [PMID: 12445742 DOI: 10.1016/S0169-5002(02)00224-6]
- 50 Altaha R, Liang X, Yu JJ, Reed E. Excision repair cross complementing-group 1: gene expression and platinum resistance. *Int J Mol Med* 2004; 14: 959-970 [PMID: 15547660]
- 51 Liu L, Xing D, Chen WR, Chen T, Pei Y, Gao X. Calpain-mediated pathway dominates cisplatin-induced apoptosis in human lung adenocarcinoma cells as determined by real-time single cell analysis. *Int J Cancer* 2008; 122: 2210-2222 [PMID: 18214855]
- 52 吕汪霞, 苏丹, 马胜林. 肺癌耐药机制研究的新进展. *中国肺癌杂志* 2005; 8: 152-155
- 53 Rosell R, Cobo M, Isla D, Camps C, Massuti B. Pharmacogenomics and gemcitabine. *Ann Oncol* 2006; 17: v13-v16 [PMID: 16807441 DOI: 10.1093/annonc/mdj942]
- 54 Rosell R, Danenberg KD, Alberola V, Bepler G, Sanchez JJ, Camps C, Provencio M, Isla D, Taron M, Diz P, Artañ A. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1318-1325 [PMID: 14977831 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0156]
- 55 张文君, 魏嘉. BRCA1基因和RAP80 mRNA表达水平与胃癌铂类化疗预后的相关性研究. *中国肿瘤临床与康复* 2012; 19: 122-125
- 56 Shim HJ, Yun JY, Hwang JE, Bae WK, Cho SH, Lee JH, Kim HN, Shin MH, Kweon SS, Lee JH, Kim HJ, Chung JJ. BRCA1 and XRCC1 polymorphisms associated with survival in advanced gastric cancer treated with taxane and cisplatin. *Cancer Sci* 2010; 101: 1247-1254 [PMID: 20331623 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01514.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

肝硬化患者生存质量及相关因素的研究进展

邓文君, 张海蓉, 石 围

邓文君, 张海蓉, 石围, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

邓文君, 主要从事肝硬化患者生存质量调查的研究.

作者贡献分布: 本文综述由邓文君与石围完成; 张海蓉负责审校.
通讯作者: 张海蓉, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科. zhr919@sina.com
电话: 0871-5316883

收稿日期: 2013-03-22 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Factors affecting quality of life in patients with cirrhosis

Wen-Jun Deng, Hai-Rong Zhang, Wei Shi

Wen-Jun Deng, Hai-Rong Zhang, Wei Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Hai-Rong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zhr919@sina.com
Received: 2013-03-22 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

Cirrhosis is a very common chronic disease with an insidious onset and a protracted course. Many kinds of complications may occur in patients with advanced liver cirrhosis. Patients with cirrhosis have seriously affected quality of life and have to suffer great physical and mental pain. Evaluation of quality of life in patients with cirrhosis is of great significance for the management of this disease. The quality of life in patients with cirrhosis is influenced by many factors, including sex, age, education, economy, duration, severity, Child classification, and late complications. Of these factors, disease course, severity, liver function grade and late complications have the greatest impact. In this paper we review major factors that affect quality of life in patients with cirrhosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Quality of life; Major factors

Deng WJ, Zhang HR, Shi W. Factors affecting quality

of life in patients with cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(20): 1945-1949 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1945>

摘要

肝硬化是消化内科临床上常见的一种慢性疾病,起病隐匿,病程迁延难愈,晚期出现的各种并发症更是严重地影响着患者的生活质量,使患者不但经历生理、心理、生活和经济的痛苦,在环境和精神上也备受困扰,对人们健康危害极为严重.故近年来肝病专家强烈呼吁重视肝硬化患者生存质量的评价.而影响肝硬化患者生存质量因素很多,如性别、年龄、文化程度、经济、病程、病情程度、Child分级、晚期各种并发症等.但其中以病程、病情程度、肝功能分级及晚期并发症的出现影响最大,本文综述了近5年来影响肝硬化患者生存质量的主要因素,以期更好地了解肝硬化患者的生存质量.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝硬化; 生存质量; 主要因素

核心提示: 肝硬化是消化内科临床上常见的一种慢性疾病,临床表现明显,晚期出现的各种并发症更是严重地影响着患者的生活质量.肝硬化患者的生存质量以病程、病情程度、肝功能分级及晚期并发症的出现影响最大.

邓文君, 张海蓉, 石围. 肝硬化患者生存质量及相关因素的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1945-1949 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1945>

0 引言

根据世界卫生组织定义:“生存质量”是指不同文化和价值体系中的个体对于他们的目标、标准以及所关心的事情和有关的生存状况的体验^[1],其内容包括身体机能、心理状况、独立能力、社会关系、生活环境、宗教信仰与精神寄托.肝硬化是各种慢性肝病发展的晚期阶段,世

■背景资料

肝硬化是消化内科临床上常见的一种慢性疾病,使患者不但经历生理、心理、生活和经济的痛苦,在环境和精神上也备受困扰,对人们健康危害极为严重.故需重视肝硬化患者生存质量的评价.

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 辽宁省本溪市本溪钢铁总医院消化内科

■研发前沿

本文主要综述近5年来肝硬化患者的生存质量及其相关因素,以期更好的了解影响肝硬化患者生存质量的主要因素,从而从相关维度来制定合理的治疗方案,有助于用正确的方式引导肝硬化患者,提高其生存质量。

界范围内的年发病率约为100(25-400)/10万,出现并发症时病死率高,其临床表现明显,并发症较多,多为不可逆性,晚期以肝功能减退和门脉高压为主要表现^[2],对患者的影响较大,因而现今特别需要评估肝硬化患者的生存质量,以了解与肝硬化患者生存质量相关的主要因素,有助于用正确的方式引导肝硬化患者,提高其生存质量。

1 肝硬化患者生存质量现状

1.1 测量肝炎患者生存质量的相关量表 目前用于肝炎患者生存质量测量的量表主要有:(1)普适性量表:其中简明健康调查量表(medical outcomes study short form 36, SF-36)由美国医学学会研究组制订,包括8个维度,总共36个条目^[3]。这是我国目前肝病患者的生存质量测量上所经常使用的量表;(2)慢性肝病的特异性量表:国外Bayliss等^[4]学者创立了肝炎生存质量量表;1999年,Younossi等^[5]通过对60例肝病患者的临床表现的分析和20位专家协商,并借助于网上医学资源,最终制订了慢性肝脏疾病量表。他包含6个维度29个条目,是世界上第一个慢性肝病特异性量表,用于各种慢性肝病生存质量测量(Child C级肝硬化除外)的量表。目前Bajaj等^[6]报道的患者报告结果测量信息系统计算机自适应测试工具评估肝硬化患者生存质量有显著并发和区分的效度,测试-再测试的可靠性和评估使肝硬化患者的生活品质得到优先选择。他是一种灵活的、易获得的和无版权受限的评估肝硬化患者健康相关生存质量的工具。

1.2 国外肝硬化患者生存质量研究现状 国外肝硬化主要以丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)后肝硬化为主,其次是非酒精性脂肪性肝硬化。因此国外的研究者主要对丙型肝炎病毒感染后肝硬化患者生存质量及影响因素进行了一系列研究。丙型肝炎现在已经严重影响到全球所有的国家,是全球主要的健康问题之一,需要进行广泛的积极的干预措施、预防和控制。本次评估发现全球性丙型肝炎的患病率为2.35%,涉及1.6亿慢性感染者^[7]。丙型肝炎感染率范围为北欧地区<1.0%至北非地区具体估计为2.9%,患病率最低国家(0.01%-0.10%)在英国和斯堪的纳维亚国家,患病率最高国家(15%-20%)则来自埃及^[8,9]。研究认为,导致HCV感染的高危因素有:吸毒、同时用注射器、同性恋、输血^[10],纹身、肝硬化家族史^[11],长期的

血液透析等;尤其是合并艾滋病感染时,更容易加速肝硬化、肝衰竭和肝癌的发生。据估计,全球27%的肝硬化和25%原发性肝癌(primary carcinoma of the liver, PLC)发生在HCV感染者^[12]。Dan等^[13]的研究显示了相比乙型肝炎后肝硬化,HCV肝硬化患者的生存质量更低。治疗可以改善病情,延长患者生存时间,提高肝炎患者生存质量。聚乙二醇干扰素和利巴韦林双联治疗仍是治疗HCV感染的首选,并且这种选择在大多数卫生保健系统中符合成本效益的使用。使用辅助治疗,如造血生长因子,可提高患者的依从性治疗和生存质量,但还没有证明可以提高病毒持续应答^[14]。但是长期的聚乙二醇干扰素治疗并没有减少慢性丙型肝炎及晚期肝纤维化或肝硬化患者的并发症^[15]。目前对于耐受性好的肝硬化患者,丙型肝炎治疗指南推荐应用干扰素联合利巴韦林进行抗病毒治疗。但是因为失代偿期肝硬化的患者对干扰素耐受性差,对这类患者丙型肝炎治疗指南都不建议应用干扰素联合利巴韦林进行抗病毒治疗^[16]。慢性丙型肝炎并发症的发生率和死亡率与肝纤维化逐步进展和肝硬化的发展有着密切的关系。肝硬化和肝癌目前被认为是慢性丙型肝炎患者的主要死因,其中最主要的死因是失代偿期肝硬化。因此HCV感染的早期诊断是必不可少的,积极地进行早期抗病毒治疗及开发新的有效的抗病毒治疗亦是非常必须的。Liu等^[17]研究认为HCV蛋白酶抑制剂有待可以增加HCV基因1型感染患者的治疗效果,即使该药带来福音的同时也增加着不良作用和治疗费用,其研究仍然支持蛋白酶抑制剂在慢性丙型肝炎患者肝纤维化一线治疗方案的一部分中起着重要作用。

对于非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)后肝硬化,David等^[18]认为NAFLD患者的生存质量有明显的减退。但目前尚无明确安全可靠的药物治疗脂肪肝硬化。但在国内,护肝药熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)被列为NAFLD的首选治疗药物^[19],它具有降低血脂、拮抗胆汁酸的细胞毒性作用,保护线粒体功能,抑制细胞凋亡以及调节免疫等作用。

1.3 国内肝硬化患者生存质量研究现状 在我国引起肝硬化的病因以病毒性肝炎为主,主要为乙型、丙型和丁型肝炎病毒感染,约占60%-80%,而各种肝炎重叠感染可加速发展至肝硬化^[2],我国是世界上乙型肝炎病毒携带者最

■相关报道

通过相关研究报道发现,影响肝硬化患者生存质量的主要因素为病程、病情程度、肝功能分级及晚期并发症。

多的国家, 约占总人口的10%^[20], 故而国内很多关于肝硬化患者生存质量的研究报道都以乙型肝炎后肝硬化居多, 而其失代偿期患者的生存质量总体都不高, 尤其不治疗的或者病情迁徒, 出现并发症的生存质量明显下降。

我国尚未启用计算机自适应测试工具(computerised adaptive testing, CTA)来评估肝硬化患者的生存质量。大多仍采用SF-36量表来测定肝硬化患者, 尤其是乙型肝炎后肝硬化的健康相关生存质量。乔慧等^[21]采用SF-36量表研究发现慢性乙型肝炎、肝硬化患者组的SF-36总评分及其八个维度(躯体健康、躯体角色功能、躯体疼痛、总体健康、精力、社会功能、情绪角色功能、心理健康)的评分均降低, 乙型肝炎肝硬化患者的生存质量全面下降。影响慢性乙型肝炎肝硬化患者生存治疗(quality of life, QoL)的诸多因素中经济收入、乏力和病程是主要因素。国内报道^[22]肝硬化失代偿运用核苷类药物后发现, 肝炎后肝硬化患者中在肝硬化失代偿期中服用抗核苷类药物, 可以抑制乙型肝炎病毒基因的复制, 改善肝功能, 稳定或逆转疾病进展, 安全性较好, 还可减少和延缓相关并发症和PLC的发生, 延长生存时间, 提高患者生存质量。

2 影响肝硬化患者生存质量的主要因素

肝硬化患者生存质量可能的相关因素包括: 性别、年龄、文化程度、家庭经济、肝硬化(Child-Pugh)分级、病程、营养状况、自我效能及社会支持、引起患者不适的症状和体征(包括乏力纳差、肝区不适、腹胀、腹水、黄疸)等, 而主要因素则是病因、肝功能代偿程度和并发症。

2.1 疾病相关主要因素

2.1.1 病因变化对肝硬化患者生存质量的影响: 一直以来我国导致肝硬化的病因有: (1)病毒性肝炎, 主要以乙型、HCV感染为主, 我国约占70%; (2)慢性酒精性肝硬化, 以欧美国家多见, 我国约占15%; (3)非酒精性脂肪性肝硬化; (4)胆汁性肝硬化, 持续性肝内或肝外胆管阻塞, 高浓度胆酸和胆红素可损伤肝细胞, 引起原发性胆汁性肝硬化和继发性胆汁性肝硬化。在我国由病毒性肝炎引起的肝硬化居首位^[2]。目前我国导致肝硬化的病因较之前有所变化, 研究发现^[23]通过肝硬化病因及相关分析, 探讨近年我国本地区肝硬化病因的特点及其变化, 虽然乙型病毒性肝炎仍然为我国肝硬化的主要病因, 但是酒精

性肝硬化和非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)相关性肝硬化随时间呈上升趋势。高茹等^[24]发现酒精性肝病患者健康相关生存质量降低, 且病情越重, 健康相关生存质量越差。酒精性肝病患者健康相关生存质量与慢性乙型肝炎患者相似。杜文杰等^[25]研究示NALFD患者SF-36量表各维度评分均明显低于正常对照组, 提示NAFLD可严重影响患者的生活质量; 同时还发现, NAFLD患者经治疗后QOL和RE、BP、VT、SF、GH评分均较治疗前明显增高, 且随着治疗时间的延长, 各维度评分可逐渐提高, 提示NAFLD患者予长期干预治疗后具有明显疗效。

2.1.2 肝功能分级对肝硬化患者生存质量的影响: 路德艳等^[26]研究示不同肝功能分级的肝硬化患者生存质量亦有所不同, 肝功能A级的肝硬化患者主要为心理、社会领域生存质量的下降, 而肝功能B级的肝硬化患者主要为生理领域、环境领域质量的下降, C级的肝硬化患者各个领域的生存质量均普遍下降。成维君等^[27]研究发现肝硬化病情程度越严重的患者其生活质量评分越低, 说明肝硬化患者的生活质量与肝硬化的病情程度有一定的关系, 其差异主要集中在健康感受、心理健康、精力3方面。

2.1.3 肝硬化失代偿期并发症对肝硬化患者生存质量的影响: 国内一些学者就并发症对肝炎后肝硬化患者生存质量的影响进行研究, 认为并发症是影响肝炎后肝硬化患者生存质量的重要因素, 严重并发症甚至会致残和引起早死。高建蓉等^[28]研究示肝硬化失代偿期患者生存质量受到心理功能、身体功能、社会功能、物质生活多方面的影响, 各方面相互作用形成恶性循环, 进一步降低患者生存质量。孟晓丹等^[29]分析178例肝硬化的并发症分析认为肝硬化是大多数慢性肝病发展的终末期阶段, 患者往往因其并发症的出现病情迅速恶化, 甚至死亡。周永莉等^[30]研究显示对肝硬化患者的主要并发症, 最常见的为上消化道出血, 且为其死亡的主要原因; 其次为肝性脑病、电解质紊乱、肝肾综合征、感染等。

2.2 非疾病相关因素 Hsu等^[31]认为婚姻状况、收入程度及较轻合并症较肝病阶段更大的影响着全球HCV患者的生活质量, 其研究发现, 个人经历了已婚或同居关系与其单身相比有显著更好的生活质量。更高收入和较少合并症似乎也带来更好生活质量。Lasker等^[32]研究认为生存质量涉及到很多方面, 多变量分析显示, 疲劳、抑

■创新盘点

关于肝硬化患者生存质量的研究报道大多以乙型肝炎肝硬化为主, 并且相似文献综述缺乏国外肝硬化患者生存质量的相关研究报道, 本文不仅综述除了乙型肝炎肝硬化外的其余病因引起的肝硬化患者生存质量的研究报道, 而且还加入了国外关于肝硬化患者生存质量的相关研究进展, 全面地反映了肝硬化患者的生存质量及其相关因素的研究进展。

■应用要点

通过对肝硬化患者生存质量进行评价, 以便制订合理、经济、个性化的治疗方案, 对于今后如何加强患者的规范治疗, 怎么开展健康教育, 提高患者自理能力, 如何提供更有意义的途径和措施等方面来提高肝硬化患者生存质量。

■名词解释

肝硬化: 各种慢性肝病发展的晚期阶段,其临床表现明显,并发症较多,多为不可逆性,晚期以肝功能减退和门脉高压为主要表现。生存质量: 根据世界卫生组织定义:“生存质量”为生命质量、生活质量、生命素质等,是指不同文化和价值体系中的个体对于他们的目标、标准以及所关心的事情和有关的生存状况的体验。

郁、应对和教育,但不是移植状态,被确定为生活质量的指标。当患者的情况不再比国家普通标准差时,原发性胆汁性肝硬化患者肝移植5年后身体生存质量显著提高,然而尽管及时地进行了肝移植,心理生存质量仍然比国家普通标准差。解满霞等^[33]调查发现年轻的乙型病毒性肝炎肝硬化患者生理领域生存质量较差,可能由于患者病情发展快,且年轻患者的自我实现的价值观较高,对生存质量期望值高,因而自我评价往往较低,老年患者生理不适合活动方面的限制相对小,提示临床工作者应加强对年轻乙型病毒性肝炎肝硬化患者的关注。性别与肝硬化患者的生存质量我国国内关于这方面研究亦不多。侯玉华等^[34]认为女性的生存质量受损程度要比男性表现得更为严重,原因可能与女性本身特质相关,女性在情感上比男性更多的愿意表达负面情绪,因而在生存质量的活力、心理功能、社会功能、疼痛等更大程度取决于心理社会因素领域的维度,女性得分往往会低于男性。有效的心理干预在提高肝硬化患者生存质量方面也起到了积极的作用。吴秀琳等^[35]运用生物-心理-社会医学的模式治疗肝硬化患者,为患者提供一定的心理支持和治疗,使患者正确认识疾病,减轻思想压力,促进机体康复。另外通过健康教育和心理干预等措施可以改善肝硬化患者的生存质量。杨美华等^[36]发现肝硬化患者的自我效能及各因子总分与生存质量总分呈正相关,即自我效能水平提高,自我管理能力的提高,改善饮食、情绪调节、合理休息与遵医嘱服药、复诊行为能力的提高,其生活质量越高。同时,社会支持作为社会心理应激的中介因素,可以缓冲肝硬化患者社会压力、经济压力、情绪压力,进而提高肝硬化患者的自我效能,改善其生存质量。

总之,肝硬化失代偿期患者生存质量相关因素较多,说明该类患者生存质量的复杂性,同时也为提高其生存质量提供了多种途径。

3 结论

通过对肝硬化患者生存质量进行评价,可以通过对患者引起疾病的因素、病程、并发症,患者躯体、心理、社会等各个方面进行综合的整体评估,以便制订合理、经济、个性化的治疗方案。目前,国内外学者对肝硬化患者的生存质量也有较多研究,我国近年也制订了相应的测量工具并分析影响生存质量下降的因素,今后

工作的重点是如何加强患者的规范治疗,怎么开展健康教育,提高患者自理能力,如何提供更有效的途径和措施等方面提高肝硬化患者生存质量。

4 参考文献

- 1 Study protocol for the World Health Organization project to develop a Quality of Life assessment instrument (WHOQOL). *Qual Life Res* 1993; 2: 153-159 [PMID: 8518769 DOI: 10.1007/BF00435734]
- 2 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 446-456
- 3 Bravata DM, Olkin I, Barnato AE, Keeffe EB, Owens DK. Health-related quality of life after liver transplantation: a meta-analysis. *Liver Transpl Surg* 1999; 5: 318-331 [PMID: 10388505 DOI: 10.1002/Lt.500050404]
- 4 Bayliss MS. Methods in outcomes research in hepatology: definitions and domains of quality of life. *Hepatology* 1999; 29: 3S-6S [PMID: 10386074]
- 5 Younossi ZM, Guyatt G, Kiwi M, Boparai N, King D. Development of a disease specific questionnaire to measure health related quality of life in patients with chronic liver disease. *Gut* 1999; 45: 295-300 [PMID: 10403745 DOI: 10.1136/gut.45.2.295]
- 6 Bajaj JS, Thacker LR, Wade JB, Sanyal AJ, Heuman DM, Sterling RK, Gibson DP, Stravitz RT, Puri P, Fuchs M, Luketic V, Noble N, White M, Bell D, Revicki DA. PROMIS computerised adaptive tests are dynamic instruments to measure health-related quality of life in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1123-1132 [PMID: 21929591 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04842.x]
- 7 Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 107-115 [PMID: 21091831 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03432.x]
- 8 Shepard CW, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Epidemiology of hepatitis B and hepatitis B virus infection in United States children. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 755-760 [PMID: 16148839]
- 9 Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, Lavanchy D, Arthur RR, Magder LS, El Khoby T, Abdel-Wahab Y, Aly Ohn ES, Anwar W, Sallam I. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet* 2000; 355: 887-891 [PMID: 10752705]
- 10 Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-538 [PMID: 16879891 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.05.013]
- 11 Romero-Figueroa S, Ceballos-Salgado E, Santillán-Arreygüe L, Miranda-García M, Rubio-Lezama M, Garduño-García JJ. Risk factors associated with hepatitis C virus infection in an urban population of the State of Mexico. *Arch Virol* 2012; 157: 329-332 [PMID: 22038071 DOI: 10.1007/s00705-011-1149-y]
- 12 Flisiak R, Halota W, Horban A, Juszczak J, Pawlowska M, Simon K. Prevalence and risk factors of HCV infection in Poland. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 1213-1217 [PMID: 22002000 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834d173c]
- 13 Dan AA, Kallman JB, Wheeler A, Younoszai Z, Collantes R, Bondini S, Gerber L, Younossi ZM.

- Health-related quality of life in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 815-820 [PMID: 17767465 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01558.x]
- 14 Jafferbhoy H, Gashau W, Dillon J. Cost effectiveness and quality of life considerations in the treatment of hepatitis C infection. *Clinicoecon Outcomes Res* 2010; 2: 87-96 [PMID: 21935317]
- 15 Snow KK, Bonkovsky HL, Fontana RJ, Kim HY, Sterling RK, Di Bisceglie AM, Morgan TR, Dienstag JL, Ghany MG. Changes in quality of life and sexual health are associated with low-dose peginterferon therapy and disease progression in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 719-734 [PMID: 20070284 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04235.x]
- 16 Husa P, Slesinger P, Stroblová H, Svobodník A. [The meaning of viral kinetics in the beginning of the pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C]. *Vnitr Lek* 2006; 52: 153-159 [PMID: 16623278]
- 17 Liu S, Cipriano LE, Holodniy M, Owens DK, Goldhaber-Fiebert JD. New protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C: a cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2012; 156: 279-290 [PMID: 22351713 DOI: 10.1059/0003-4819-156-4-201202210-00005]
- 18 David K, Kowdley KV, Unalp A, Kanwal F, Brunt EM, Schwimmer JB. Quality of life in adults with nonalcoholic fatty liver disease: baseline data from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009; 49: 1904-1912 [PMID: 19434741 DOI: 10.1002/hep.22868]
- 19 Angulo P. Use of ursodeoxycholic acid in patients with liver disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 37-44 [PMID: 11825540]
- 20 Tanaka M, Katayama F, Kato H, Tanaka H, Wang J, Qiao YL, Inoue M. Hepatitis B and C virus infection and hepatocellular carcinoma in China: a review of epidemiology and control measures. *J Epidemiol* 2011; 21: 401-416 [PMID: 22041528 DOI: 10.2188/jea.JE20100190]
- 21 乔慧, 任彬彬, 刘秀英, 吴军. 乙型肝炎, 肝硬化患者生存质量评价及相关因素研究. *宁夏医学杂志* 2009; 31: 109-110
- 22 张敦慈, 张国顺, 马利转, 王玉兰, 徐晓平, 李珊珊, 李玉林. 核苷类药物在预防乙型肝炎肝硬化反复发中的作用. *现代预防医学* 2011; 38: 751-753
- 23 郑盛, 刘海, 殷芳, 肖琼怡, 朱为梅, 王建刚. 肝硬化患者768例病因及临床特点分析. *浙江临床医学* 2011; 13: 20-23
- 24 高茹, 高峰, 李光, 郝建宇. 酒精性肝病患者健康相关生存质量研究. *中华临床医师杂志(电子版)* 2012; 12: 3331-3335
- 25 杜文杰, 刘华生. 非酒精性脂肪肝患者的生存质量评估. *浙江医学* 2009; 31: 471-472
- 26 路德艳, 许娟. 不同肝功能分级的肝硬化患者生存质量调查. *中国医学伦理学* 2010; 3: 43-44
- 27 成维君, 徐燕飞. 肝硬化患者的生活质量调查与对策. *中国现代医生* 2012; 49: 13-14
- 28 高建蓉, 黄雪云, 谢秀文, 郭翠玲. 肝硬化失代偿期患者生存质量及其影响因素调查分析. *现代临床护理* 2008; 7: 10-12
- 29 孟晓丹, 向国卿, 贺小虎, 王炳元. 肝硬化病因及临床特点分析178例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1880-1884
- 30 周永莉, 段志军. 肝炎后肝硬化与酒精性肝硬化患者临床特征的比较及防治. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3313-3319
- 31 Hsu PC, Krajden M, Yoshida EM, Anderson FH, Tomlinson GA, Krahn MD. Does cirrhosis affect quality of life in hepatitis C virus-infected patients? *Liver Int* 2009; 29: 449-458 [PMID: 19267865 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01865.x]
- 32 Lasker JN, Sogolow ED, Short LM, Sass DA. The impact of biopsychosocial factors on quality of life: women with primary biliary cirrhosis on waiting list and post liver transplantation. *Br J Health Psychol* 2011; 16: 502-527 [PMID: 21722273 DOI: 10.1348/135910710X527964]
- 33 解满霞, 周进. 乙型肝炎肝硬化患者生存质量及其影响因素的调查. *医学理论与实践* 2009; 22: 1525-1527
- 34 侯玉华, 李雯雯, 李强, 娄凤兰. 慢性乙型肝炎患者健康相关生存质量分析. *山东医药* 2008; 48: 79-80
- 35 吴秀琳, 刘富军, 陈少波. 心理干预对肝硬化腹水患者生存质量的影响. *山西医药杂志* 2008; 37: 283
- 36 杨美华, 游明琼, 朱洁. 肝硬化患者自我效能与生活质量的相关性调查研究. *重庆医学* 2009; 38: 1265-1266

■同行评价

本文较全面地综述了肝硬化患者生存质量及其相关影响因素的研究进展, 对于疾病的预后评估及个体化治疗有一定参考价值。

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



炎症免疫与肠易激综合征关系的研究进展

庄李磊, 胡团敏

■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上最常见的胃肠道功能紊乱性疾病之一,其发病率高,特征为持续或间歇性发作的腹痛、腹胀、排便习惯改变和粪便形状改变,IBS的致病性具有多态性,肠道持续性低度炎症、精神心理因素、内脏高敏感性、胃肠动力异常、感染等因素可能与IBS发病有关。

庄李磊,南昌大学医学院 江西省南昌市 330000
胡团敏,中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000
庄李磊,主要从事胃肠运动障碍性疾病的研究。
南京军区“十一五”医药卫生科研基金资助项目, No. 08MA075
作者贡献分布: 庄李磊与胡团敏共同完成论文的选题; 庄李磊完成文献的检索和论文撰写; 胡团敏负责论文的审核和修改。
通讯作者: 胡团敏, 教授, 主任医师, 362000, 福建省泉州市北门外清源山下, 中国人民解放军第180医院消化内科。
yihu180@yahoo.com.cn
电话: 0595-28919151
收稿日期: 2013-04-10 修回日期: 2013-05-28
接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Advances in understanding the relationship between inflammatory immune response and irritable bowel syndrome

Li-Lei Zhuang, Tuan-Min Hu

Li-Lei Zhuang, Medical School of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China
Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China
Supported by: the Medical and Scientific Research Fund of Nanjing Military Command of Chinese PLA during the 11th Five-year Period, No. 09MA075
Correspondence to: Tuan-Min Hu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Beimenwai Qingquan shanxia, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@yahoo.com.cn
Received: 2013-04-10 Revised: 2013-05-28
Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a chronic functional bowel disease with abdominal pain, abdominal distension and bowel habit changes. Studies in recent years have demonstrated that intestinal mucosal inflammatory and immune activation plays an important role in the pathogenesis of IBS. In this paper we will review recent advances in understanding the relationship between intestinal mucosal inflammatory immune response and IBS.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Low-grade

inflammation; Immune activation

Zhuang LL, Hu TM. Advances in understanding the relationship between inflammatory immune response and irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(20): 1950-1954 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1950.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1950>

摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一组以腹痛、腹胀以及排便习惯改变为主要症状的慢性功能性肠道疾病。近些年大量研究表明肠黏膜炎症免疫在IBS的发病机制中起了重要的作用,本文综述了肠黏膜炎症免疫与IBS关系的研究进展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠易激综合征; 低度炎症; 免疫

核心提示: 肠道黏膜低度炎症及免疫因素可导致胃肠运动功能紊乱,激活内脏感觉系统,可能在肠易激综合征(irritable bowel syndrome)的发病机制中起重要的作用。

庄李磊, 胡团敏. 炎症免疫与肠易激综合征关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1950-1954 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1950.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1950>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是消化系统常见病、多发病,其发病机制复杂,严重的可影响患者的生活质量。近年来肠黏膜低度炎症及免疫因素仍然是国内外研究的热点,因此更加深入的认识肠黏膜低度炎症、免疫因素与IBS的关系愈发显得重要,本文就IBS与肠黏膜炎症免疫关系的研究进展综述如下。

1 正常肠黏膜的免疫反应

肠道的防御机制主要为肠黏膜的免疫系统,亦称肠道相关淋巴组织。诱导肠道黏膜免疫反应

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

的部位主要在肠上皮细胞和肠黏膜下集合淋巴结。肠上皮细胞一方面吸收肠腔内各种抗原, 另外还具有摄取和释放sIgA、提呈抗原、分泌细胞因子等功能。肠黏膜下集合淋巴结位于肠黏膜下, 是诱导肠黏膜组织发生特异性免疫应答的主要场所, 其调节机制可能与效应T细胞与调节T细胞的失衡有关^[1]。正常情况下, 肠黏膜每天吸收大量的抗原, 分泌大量的IgA, 表现为肠道黏膜对抗原刺激产生免疫应答, 当肠道黏膜出现炎症细胞及淋巴细胞聚集时即可表现为病理性炎症。

2 肥大细胞与IBS

肥大细胞是消化系统重要的免疫细胞, 同时也是肠道主要的抗原感受器, 参与肠黏膜的免疫应答与调节。大量临床研究表明IBS患者肥大细胞数量增多, 尤其以回盲部多见^[2-4], 腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS-D)更明显^[5-7]。Barbara等与Akbar等^[8,9]报道了肥大细胞在回肠末端不仅数目增加, 并在解剖上与肠神经系统的神经纤维相互靠近。肥大细胞通过炎症因子的释放可破坏肠黏膜屏障功能, 造成通透性增加, 其分泌神经递质作用于肠神经丛、平滑肌细胞引起肠道感觉、运动的异常, 导致肠道运动与感觉异常被认为与肥大细胞脱颗粒作用分泌生物活性介质如[类胰蛋白酶、5-羟色氨酸(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、组胺、前列腺素]等有关。

2.1 类胰蛋白酶与IBS Carroccio等^[10]研究发现, IBS患者粪便中类胰蛋白酶水平增高, 而肥大细胞通过其脱颗粒作用分泌的类胰蛋白酶被认为是类胰蛋白酶激活受体(protease activated receptor, PAR)的激活剂, PAR-2的激活使神经纤维释放P物质(substance P, SP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)等一系列神经肽, 影响肠动力和肠痛觉阈值, 并将信息传至神经中枢, 导致中枢敏感性增高, 提示肠黏膜中的神经系统及免疫系统存在功能上的相互影响, 而肥大细胞可能在这两者间起着桥梁的作用^[11,12]。

2.2 5-HT与IBS 5-HT又称血清素, 是一种重要的神经递质, 参与调节痛觉、胃肠道运动等生理功能, 来源于色氨酸的代谢, 其中90%由肠嗜铬细胞(enterochromaffin cell, EC)储存、释放和分泌, 10%存在于肠神经系统。研究表明, IBS患者5-HT分泌增多而免疫细胞CD4⁺减少, 提示免疫失衡在IBS发病中起了重要作用^[13]。另外李兆申等^[14]报道了IBS患者直肠-乙状结肠交界部EC细

胞数量明显高于对照组, 且功能活跃。EC细胞对肠腔内压力和化学刺激非常敏感, 肠腔内压力变化及各种化学刺激即可分泌5-HT, 他与黏膜下传入神经神经元上的5-HT受体结合, 刺激神经纤维释放SP、CGRP等一系列神经肽, 刺激肠蠕动并影响肠痛觉阈值, 然后将信息传至神经中枢, 导致中枢敏感性增高。

2.3 5-HT转运体与IBS 5-HT转运体(serotonin transporter, SERT)是一种对5-HT有高度亲和力的跨膜转运蛋白, 存在于肠上皮细胞的SERT可将5-HT迅速摄取从而终止其作用。大量研究表明, SERT基因多态性与IBS各型间可能存在联系。多项研究发现便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)患者L/L基因型频率显著高于IBS-D患者, 而IBS-D患者S/S基因型频率明显高于IBS-C^[15-18]。多数学者普遍认为具有S/S基因型人易患IBS-D, 具有L/L基因型的人更易患IBS-C。L/L基因型可能是IBS-D的保护因素之一。

3 免疫细胞调节失衡与IBS

研究表明, IBS患者外周血和结肠组织存在T淋巴细胞的激活, 从而使免疫调节发生异常^[19], 而Th1和Th2型免疫反应在感染后肠功能紊乱的发生中起了很重要的作用^[20,21]。李延青等^[22]对58例IBS患者及20例对照者的升结肠、降结肠和直肠黏膜标本, 采用免疫组织化学染色检测其肠黏膜主要Th1和Th2细胞因子的表达情况, 证实IBS-D患者肠黏膜内存在Th1/Th2漂移, Th1反应增强, 而IBS-C患者Th1/Th2仍趋于平衡状态。说明IBS-D患者存在免疫失衡。令狐恩强等^[23]通过对IBS-D患者外周血T淋巴细胞亚群分析, 发现IBS-D患者外周血淋巴细胞总数正常, 但CD8高, CD4下降, CD4/CD8比值下降, CD3正常, 说明IBS-D可能与免疫下降有关。张立新等^[24]通过对IBS患者不同剂量维生素C治疗后发现, 大剂量维生素C治疗组CD3、CD4、CD4/CD8比值明显增加, 而小剂量IBS组CD3、CD4和CD4/CD8比值无明显增加, 提示IBS患者存在肠道免疫功能低下。

4 肠道感染与IBS

感染后IBS(post-infective irritable bowel syndrome, PI-IBS)是指急性肠道感染恢复后出现符合IBS罗马诊断标准的临床症状, 而此前无IBS相关临床表现^[25]。研究表明急性胃肠炎患者6 mo

■研发前沿

越来越多的观点认为IBS的发病与肠道黏膜低度炎症、免疫因素密切相关, 肠道持续性低度炎症、免疫因素与IBS发病之间的联系是近年来研究的热点。肠道持续性低度炎症及免疫激活导致IBS发病的发生机制尚待进一步研究。

■相关报道

胡俊、胡国敏等通过对腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea)大鼠回盲部肥大细胞数量以及血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量的研究发现肠道激活状态的肥大细胞可能在IBS中所表现的以动力改变、感觉异常为特征的内脏高敏感性病理生理过程中起到关键性作用。

■创新盘点

炎症免疫与IBS的关系是近年研究的热点,本文较详细介绍了近些年国内外学者在炎症免疫与IBS的发病机制中的相关研究。

后大约25%可出现腹泻型IBS的症状,而大约10%的患者出现持续性腹泻型IBS症状^[26,27]。多项国外研究表明急性细菌性痢疾患者恢复后可进展为IBS,痢疾是发生IBS危险因素之一^[28-30]。Halvorson等^[31]通过Meta分析认为感染性胃肠炎患者是正常人群患IBS概率的7倍,其机制可能与病原微生物侵入肠道后导致炎症细胞趋化及免疫细胞的激活,并释放多种介质如[肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-1、组胺、类胰蛋白酶]等,破坏肠黏膜屏障,增加了肠黏膜的通透性,并影响肠道运动及感觉,最终导致IBS的发生。刘炜等^[32]研究发现通过造模诱导SD大鼠导致结肠炎,给予不同结肠扩张压力评价AWR评分及腹壁肌电幅值,证实肠道低度炎症可导致大鼠内脏感觉过敏,同时使腰骶段脊髓SP、CGRP等与痛觉有关的神经递质表达上调,导致肠道敏感性增高。而Spiller等^[33]研究发现,在PI-IBS和腹泻型的非感染后IBS患者中均可看到肠黏膜通透性增加,提示IBS除炎症因素外还存在其他病理机制导致肠道黏膜通透性增加。

5 肠道菌群失调与IBS

Pimentel等^[34]研究发现84%的IBS患者乳果糖呼气试验呈阳性,经抗生素治疗后,55%患者症状得到改善,20%的患者乳果糖呼气试验呈阴性,且乳果糖呼气试验结果转阴者的症状改善比乳果糖呼气试验未转阴者更明显,说明部分IBS患者中可能存在小肠细菌的过度生长,但其导致IBS相关症状的机制目前还不明确。Pyleris等^[35]通过十二指肠液进行微生物有氧培养的定量试验发现,320例受试者中在小肠细菌过度生长中有62例,其中42例诊断IBS,其中大肠杆菌,肠球菌和肺炎克雷伯菌是最常见的菌株,提示需氧菌是IBS发病的独立因素,同时该试验证明了非吸收性抗生素对IBS治疗的作用。

6 褪黑素与IBS

褪黑素是由松果体分泌的一种激素,因其能产生黑色素的细胞发亮,故命名为褪黑素(melatonin, MT)。MT具有调节睡眠、内分泌、抗炎和免疫调节作用。以往褪黑素被认为是由松果体分泌的一种吲哚类激素,近年来研究表明,肠嗜铬细胞同样能分泌MT,并在胃肠道大量分布,他的量是血液中的100倍,松果体的400倍^[36],这表明褪黑素与胃肠道生理病理具有相关性^[37,38]。

Radwan等^[39]通过对IBS患者尿液中褪黑素代谢产物分析研究发现,IBS-C与IBS-D患者褪黑素代谢物水平明显低于正常对照组,而IBS-C与腹泻型IBS-D之间无明显差异,同时女性IBS患者的褪黑素代谢产物明显高于男性,这些结果表明,不同的褪黑素分泌和代谢可能参与IBS的发病机制。

7 遗传因素与IBS

近年来,研究发现遗传因素可能在肠黏膜低度炎症的产生中起重要作用。Gonsalkorale等^[40]发现IBS患者高产量IL-10基因型表达率较正常对照组显著降低,而IL-10作为一种抑炎因子,可下调免疫应答,因而具有高产量IL-10基因型的人较少发生IBS。Macsharry等^[41]发现IBS患者黏膜IL-8及趋化因子的分泌减少,提示趋化因子释放受损的遗传倾向可能参与了IBS的致病过程,最终导致肠黏膜持续的低度炎症及全身免疫激活。

8 促炎因子与抑炎因子失衡与IBS

随着对IBS与炎症因子关系研究的不断深入,越来越多的证据表明促炎因子与抑炎因子的失衡在IBS的致病机制过程中起了重要的作用^[42,43]。前研究比较多的是IL。多项研究表明IBS患者促炎因子(TNF- α 、IL-1、IL-6)水平增加及抑炎因子(IL-10、IL-1RA)水平减少或者无明显变化,导致炎症的持续发展,提示促炎与抑炎因子的失衡在IBS致病过程中起了重要作用^[44-47]。但是目前对于炎症因子通过何种机制导致了IBS的发病仍有待进一步研究。

9 炎症介质的基因多态性与IBS

近年来,研究发现遗传因素可能在肠黏膜低度炎症的产生中起重要作用。梁海清等^[48]通过Meta分析认为IBS患者IL-10-592位点A等位基因和IL-10-819位点T等位基因频率明显高于对照组,患者-592位点携带A等位基因和-819位点携带T等位基因的个体比不携带该基因的个体患IBS危险性高。这可能是A等位基因和T等位基因抑制了IL-10的生成,由于IL-10是患者肠道炎症的保护因素,所以导致肠道黏膜炎症持续存在。Lee等^[49]研究发现西方人种-1082位点GG型基因与IBS遗传易感性相关,但根据梁海清等通过Meta分析发现东方人种-1082位点基因多态性与IBS遗传易感性不相关。说明不同人种某些参与炎症反应的细胞因子基因多态性分布不同,等

位基因的频率也不尽相同. Macsharry等^[41]发现IBS患者黏膜IL-8及趋化因子的分泌减少, 提示趋化因子释放受损的遗传倾向可能参与了IBS的致病过程, 最终导致肠黏膜持续的低度炎症及全身免疫激活。

10 结论

目前IBS的病因多态性已经被证实, 而炎症免疫仍然是近年研究的热点, 但其与IBS的发病机制目前并不完全明确, IBS与PI-IBS有无本质区别? IBS是否一种可用抗生素治疗的细菌感染性疾病? 免疫调节剂、抑制炎症药物及恢复肠黏膜药物是否可为IBS患者提供新的治疗方向? 我们期待更深入研究黏膜炎症及免疫因素在IBS发生发展中的作用, 为IBS的治疗提供更多的选择方向。

11 参考文献

- 林三仁. 胃肠道感染. 第2版, 北京: 人民卫生出版社, 2005
- Ortiz-Lucas M, Saz-Peiró P, Sebastián-Domingo JJ. Irritable bowel syndrome immune hypothesis. Part one: the role of lymphocytes and mast cells. *Rev Esp Enferm Dig* 2010; 102: 637-647 [PMID: 21142384 DOI: 10.4321/S1130-0]
- Goral V, Kucukoner M, Buyukbayram H. Mast cells count and serum cytokine levels in patients with irritable bowel syndrome. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 751-754 [PMID: 21033222]
- 姜敏, 李红菊, 汤浩, 张义侠, 傅宝玉. 肥大细胞在肠易激综合征患者结肠的分布特点及其作用. *中国医科大学学报* 2005; 34: 335-336
- Spiller R, Garsed K. Infection, inflammation, and the irritable bowel syndrome. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 844-849 [PMID: 19716778 DOI: 10.1016/j.dld.2009.07.007]
- 王承党, 郭朝书. 肥大细胞和类胰蛋白酶在腹泻型肠易激综合征升结肠黏膜中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1682-1686
- 霍涛, 胡团敏, 黄思付. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 219-223
- Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquinelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, Corinaldesi R. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 126: 693-702 [PMID: 14988823 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.055]
- Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Increased capsaicin receptor TRPV1-expressing sensory fibres in irritable bowel syndrome and their correlation with abdominal pain. *Gut* 2008; 57: 923-929 [PMID: 18252749 DOI: 10.1136/gut.2007.138982]
- Carroccio A, Brusca I, Mansueto P, Soresi M, D'Alcamo A, Ambrosiano G, Pepe I, Iacono G, Lospalluti ML, La Chiusa SM, Di Fede G. Fecal as-
- says detect hypersensitivity to cow's milk protein and gluten in adults with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 965-971. e3 [PMID: 21839707 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.07.030]
- Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Corinaldesi R. Functional gastrointestinal disorders and mast cells: implications for therapy. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 6-17 [PMID: 16371078 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00685.x]
- Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, Chapman K, Cottrell G, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Barbara G, Beck P, Bunnett NW, Sharkey KA, Ferraz JG, Shaffer E, Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 636-647 [PMID: 17304351 DOI: 10.1172/JCI29255]
- Khan WI, Ghia JE. Gut hormones: emerging role in immune activation and inflammation. *Clin Exp Immunol* 2010; 161: 19-27 [PMID: 20408856]
- 李兆申, 詹丽杏, 邹多武, 许国铭, 满晓华, 叶熙亭. 肠易激综合征患者分泌5-羟色胺的肠嗜铬细胞形态及功能的改变. *中华消化杂志* 2004; 24: 94-97
- Wang YM, Chang Y, Chang YY, Cheng J, Li J, Wang T, Zhang QY, Liang DC, Sun B, Wang BM. Serotonin transporter gene promoter region polymorphisms and serotonin transporter expression in the colonic mucosa of irritable bowel syndrome patients. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 560-565. e254-e255 [PMID: 22435794 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01902.x]
- Markoutsaki T, Karantanos T, Gazouli M, Anagnou NP, Ladas SD, Karamanolis DG. Serotonin transporter and G protein beta 3 subunit gene polymorphisms in Greeks with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3276-3280 [PMID: 21559741]
- Pata C, Erdal ME, Derici E, Yazar A, Kanik A, Ulu O. Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1780-1784 [PMID: 12135035 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05841.x]
- 张晓敏, 林志辉. 5-羟色胺转运体基因多态性与肠易激综合征的相关性. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1790-1794
- Ohman L, Isaksson S, Lindmark AC, Posserud I, Stotzer PO, Strid H, Sjövall H, Simrén M. T-cell activation in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1205-1212 [PMID: 19367268 DOI: 10.1038/ajg.2009.116]
- Gwee KA, Collins SM, Read NW, Rajnakova A, Deng Y, Graham JC, McKendrick MW, Mouchhala SM. Increased rectal mucosal expression of interleukin 1beta in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2003; 52: 523-526 [PMID: 12631663 DOI: 10.1136/gut.52.4.523]
- Khan WI, Collins SM. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation. *Clin Exp Immunol* 2006; 143: 389-397 [PMID: 16487236 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02979.x]
- 李延青, 张海燕, 左秀丽, 袁海鹏, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征患者肠黏膜Th1/Th2漂移的研究. *中华消化杂志* 2004; 12: 728-731
- 令狐恩强, 杨云生. 肠易激综合征患者外周血T淋巴细胞亚群分析. *中华消化杂志* 2002; 22: 423-425
- 张立新, 高志新. 大剂量维生素C对肠易激综合征细胞免疫功能的影响. *山东医药* 2012; 52: 90-91
- Spiller RC. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2003; 124: 1662-1671 [PMID: 12761724 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00324-X]

■应用要点

通过了解炎症免疫与IBS的关系, 为IBS的治疗提供了一些新的途径。

■同行评价

本文全面分析了肠黏膜免疫与IBS的关系,认为肠黏膜低度炎症及免疫激活参与了IBS的发病,深化了对IBS发病机制的认识。

- 26 Spiller R, Garsed K. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 136: 1979-1988 [PMID: 19457422 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.074]
- 27 Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997; 314: 779-782 [PMID: 9080994 DOI: 10.1136/bmj.314.7083.779]
- 28 Ji S, Park H, Lee D, Song YK, Choi JP, Lee SI. Post-infectious irritable bowel syndrome in patients with Shigella infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 381-386 [PMID: 15740480 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.03574.x]
- 29 Wang LH, Fang XC, Pan GZ. Bacillary dysentery as a causative factor of irritable bowel syndrome and its pathogenesis. *Gut* 2004; 53: 1096-1101 [PMID: 15247174 DOI: 10.1136/gut.2003.021154]
- 30 Marshall JK, Thabane M, Garg AX, Clark WF, Moayyedi P, Collins SM. Eight year prognosis of postinfectious irritable bowel syndrome following waterborne bacterial dysentery. *Gut* 2010; 59: 605-611 [PMID: 20427395]
- 31 Halvorson HA, Schlett CD, Riddle MS. Postinfectious irritable bowel syndrome—a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1894-1899; quiz 1942 [PMID: 16928253 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00654.x]
- 32 刘炜, 王承党. 结肠黏膜低度炎症对小鼠结肠PAR-2活化和内脏感觉过敏的诱发作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3413-3419
- 33 Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute Campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811 [PMID: 11076879 DOI: 10.1136/gut.47.6.804]
- 34 Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Normalization of lactulose breath testing correlates with symptom improvement in irritable bowel syndrome. a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 412-419 [PMID: 12591062]
- 35 Pyleris E, Giamarellos-Bourboulis EJ, Tzivras D, Koussoulas V, Barbatzas C, Pimentel M. The prevalence of overgrowth by aerobic bacteria in the small intestine by small bowel culture: relationship with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1321-1329 [PMID: 22262197 DOI: 10.1007/s10620-012-2033-7]
- 36 Bubenik GA. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2336-2348 [PMID: 12395907]
- 37 Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Bubenik GA. Role of melatonin in upper gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58 Suppl 6: 23-52 [PMID: 18212399]
- 38 吴建胜, 吴金明, 陈新民. 褪黑素与急性胃粘膜病变. *国外医学·消化系疾病分册* 2004; 24: 348-349
- 39 Radwan P, Skrzydło-Radomanska B, Radwan-Kwiatek K, Burak-Czapiuk B, Strzemecka J. Is melatonin involved in the irritable bowel syndrome? *J Physiol Pharmacol* 2009; 60 Suppl 3: 67-70 [PMID: 19996484]
- 40 Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003; 52: 91-93 [PMID: 12477767 DOI: 10.1136/gut.52.1.91]
- 41 Macsharry J, O'Mahony L, Fanning A, Bairead E, Sherlock G, Tiesman J, Fulmer A, Kiely B, Dinan TG, Shanahan F, Quigley EM. Mucosal cytokine imbalance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 1467-1476 [PMID: 18752146 DOI: 10.1080/00365520802276127]
- 42 Akiho H, Deng Y, Blennerhassett P, Kanbayashi H, Collins SM. Mechanisms underlying the maintenance of muscle hypercontractility in a model of postinfective gut dysfunction. *Gastroenterology* 2005; 129: 131-141 [PMID: 16012943 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.049]
- 43 Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-1783 [PMID: 12055584 DOI: 10.1053/gast.2002.33579]
- 44 胡俊, 胡团敏, 何文钦, 黄永德. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠IL-1 β 、IL-10表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2188-2191
- 45 梁海清, 王世和, 李延青, 王胜福. 肠易激综合征患者外周血炎症细胞因子表达失衡的分析. *胃肠病学* 2008; 13: 111-113
- 46 梁海清, 王世和, 祝莹, 王福胜. 感染后肠易激综合征患者肠黏膜炎症细胞因子的失衡. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 1032-1035
- 47 Liebrechts T, Adam B, Bredack C, Röth A, Heinzel S, Lester S, Downie-Doyle S, Smith E, Drew P, Talley NJ, Holtmann G. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 913-920 [PMID: 17383420 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.046]
- 48 梁海清, 王世和, 祝莹, 王福胜. 白介素-10基因多态性与肠易激综合征易感性关系的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2519-2524
- 49 Lee HJ, Lee SY, Choi JE, Kim JH, Sung IK, Park HS, Jin CJ. G protein beta3 subunit, interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Koreans with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 758-763 [PMID: 20337945 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01496.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



NF- κ B、Bcl-2在大鼠非酒精性肝病肝细胞凋亡中的作用

石海燕, 李珏宏, 李昌平, 康敏, 钟晓琳

石海燕, 四川省巴中市中心医院 四川省巴中市 636000
李珏宏, 四川大学华西临床医学院 四川省成都市 610041
李昌平, 康敏, 钟晓琳, 泸州医学院附属医院 四川省泸州市 646000
石海燕, 硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。
2011年泸州市科技局基金资助项目, No. 2011-I-S39(2/6)
作者贡献分布: 石海燕与李昌平对此文贡献均等; 此课题由石海燕、李昌平、李珏宏及钟晓琳设计; 研究过程由石海燕、李昌平、康敏、李珏宏及钟晓琳共同完成; 本论文写作由石海燕与李昌平完成。
通讯作者: 李昌平, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科。
lichangping1965@sina.com
收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-29
接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Role of NF- κ B and Bcl-2 in hepatocyte apoptosis in rats with NAFLD

Hai-Yan Shi, Yu-Hong Li, Chang-Ping Li, Min Kang, Xiao-Lin Zhong

Hai-Yan Shi, Central Hospital of Bazhong City, Bazhong 636000, Sichuan Province, China
Yu-Hong Li, West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Chang-Ping Li, Min Kang, Xiao-Lin Zhong, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Supported by: the Foundation of Luzhou Municipal Science and Technology Bureau, No. 2011-I-S39(2/6)
Correspondence to: Chang-Ping Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. lichangping1965@sina.com
Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-29
Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To examine the expression of nuclear factor κ B (NF- κ B) and Bcl-2 in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats and to investigate the role of the mitochondrial injury pathway in hepatocyte apoptosis and the pathogenesis of NAFLD.

METHODS: Thirty-six rats were randomly and equally divided into two groups: a control group and an experimental group. The rats were killed at weeks 6, 10, and 14, and histopathological features of the liver were observed by microscopy. Plasma levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α)

were measured by radioimmunoassay, hepatocyte apoptosis was assessed by TUNNEL assay, and expression of Bcl-2 and NF- κ B proteins in hepatocytes was measured by immunohistochemistry.

RESULTS: Histopathological staining showed the liver structure was normal in the control group. However, lobular steatosis was observed in the model group. Portal and periportal inflammation and lobular inflammation were noted at week 10, and liver fibrosis was visible at week 14. Compared to the control group, apoptosis was increased in the model group, and this process was time-dependent. A time-dependent increase in the expression of Bcl-2 and NF- κ B in liver tissue and serum levels of TNF- α was also found in the model group compared to the control group.

CONCLUSION: Apoptosis is a critical step for the development of NAFLD, and NF- κ B and Bcl-2 play an important role in hepatocyte apoptosis in NAFLD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Hepatocyte apoptosis; Nuclear factor κ B; Bcl-2; Tumor necrosis factor- α

Shi HY, Li YH, Li CP, Kang M, Zhong XL. Role of NF- κ B and Bcl-2 in hepatocyte apoptosis in rats with NAFLD. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1955-1960
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1955.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1955>

摘要

目的: 通过核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、Bcl-2在大鼠非酒精性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)中的表达, 研究线粒体损伤途径在肝细胞凋亡中的作用及NAFLD的发病机制。

方法: 将36只SD大鼠随机分为正常组18只, 模型组18只, 分别于6、10、14 wk处死各组大鼠, 6只在光镜下观察肝组织病理学形态; 血浆肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,

■背景资料

非酒精性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝实质细胞脂肪变性和脂肪储积为特征的临床综合征, 病理学改变与酒精性肝病(alcoholic fatty liver disease, ALD)相似, 但无过量饮酒史。其病理过程包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎和脂肪性肝纤维化, 最后导致肝硬化、肝衰竭, 并可能引起肝癌、移植肝复发等问题。近年来, 随着社会发展, NAFLD发病率逐年增加, 成为一种危害人类健康的常见慢性肝脏疾病, 其发病机制尚未阐明。

■同行评议者

朱传武, 主任医师, 苏州市第五人民医院传染科

■研究前沿

随着对NAFLD的研究的深入,肝细胞凋亡在NAFLD发病中的作用也逐渐被重视。多个研究发现NAFLD存在肝细胞凋亡,并随病情进展加重,但其具体机制尚不清楚。

TNF- α)采用放免法测定;TUNNEL法测肝细胞凋亡百分数;免疫组织化学检测Bcl-2、NF- κ B蛋白在肝细胞中的表达情况。

结果:肝组织病理结果提示正常组肝组织结构正常,模型组第6、10、14周大鼠肝小叶脂肪变性,门管区及周围及腺泡第10、14周大鼠可见炎性细胞浸润,第14周大鼠出现胶原纤维生成。细胞凋亡百分数结果提示正常组在各时间段有散在凋亡阳性表现,模型组凋亡细胞表达明显高于正常组,且随着时间的延长表达逐渐增多。免疫组织化学结果显示造模组随着时间的延长Bcl-2表达逐步增加,且脂肪变明显的区域阳性染色细胞较相对正常肝细胞染色深。NF- κ B定位于细胞质和/或细胞核,模型组第6、10、14周大鼠肝细胞内可见NF- κ B明显活化,而且随造模时间延长,其表达随之增多。各组大鼠血浆TNF- α 测定模型组各组大鼠血浆TNF- α 表达随着造模时间的延长逐渐增高,且均高于同时间段正常组表达。

结论:细胞凋亡是NAFLD病情进展的重要阶段,NF- κ B、Bcl-2在NAFLD肝细胞凋亡中起到重要作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病;肝细胞凋亡;核因子 κ B; Bcl-2; 肿瘤坏死因子- α

核心提示: Bcl-2及其家族成员是调节肝细胞凋亡的核心机制之一,而核因子 κ B对Bcl-2家族蛋白的调节起着重要作用,可以利用促凋亡蛋白的抑制剂或者抑制凋亡蛋白的保护剂作为抗肝细胞凋亡的药物,阻止肝细胞凋亡的过程,延缓疾病进展,以期对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)的治疗有新的方法。

石海燕,李珏宏,李昌平,康敏,钟晓琳. NF- κ B、Bcl-2在大鼠非酒精性肝病肝细胞凋亡中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1955-1960 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1955.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1955>

0 引言

随着社会发展,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率逐年增加,成为一种危害人类健康的常见慢性肝脏疾病。全球流行病学调查表明,成人的NAFLD发病率为20%-33%,肥胖或2型糖尿病患者中NAFLD发病率达到75%,最新的研究发现该病呈低龄化趋势。为此,NAFLD在西方国家和世

界其他地区越来越受到重视^[1-3]。随着对NAFLD的研究的深入,肝细胞凋亡在NAFLD发病中的作用也逐渐被重视^[4]。肝细胞凋亡有多种途径,其中,线粒体损伤途径是NAFLD中肝细胞发生凋亡的中心环节,是诱导肝细胞凋亡的参与者^[5]。本实验通过观察NAFLD大鼠中核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)、Bcl-2、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达及肝细胞凋亡百分数等,进一步研究线粒体损伤途径在NAFLD肝细胞凋亡中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 TUNNEL试剂盒, TNF- α 放免试剂盒购自上海沪宇生物科技有限公司;兔抗大鼠NF- κ B多克隆抗体、兔抗大鼠Bcl-2多克隆抗体、二抗羊抗兔IgG、SP免疫组织化学染色试剂盒、DAB显色试剂盒购自上海博谷生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模:将健康成年SPF级 δ SD大鼠36只,体质量 150 ± 30 g,随机分为正常组18只(普通饮食喂养),模型组18只(高脂饮食喂养:胆固醇2.0%,胆酸钠0.5%,丙硫氧嘧啶0.2%,蔗糖5.0%,猪油10.0%,基础饲料82.3%由泸州医学院实验动物中心新鲜配制)自由进水,于第6、10、14周处死各组大鼠6只,分离出的血清和取出的肝脏组织放置-80℃冰箱保存。

1.2.2 检测指标:肝脏病理学检查:将取出的肝组织用10%多聚甲醛固定1 d,石蜡包埋并切片,行HE染色,在光镜下观察肝组织病理学形态;血浆TNF- α 采用放免法测定;TUNNEL法测肝细胞凋亡百分数,肝脏组织切片依次脱蜡、水化,再清除内源性过氧化物酶,以TUNEL反应液作用50 min,转化POD, DBA显色3 min;随即中性树脂封片。阴性对照标本上不加酶溶液,仅加标记液。结果分析:对5个高倍视野下进行阳性细胞定量分析。棕黄色或棕褐色颗粒为阳性表达,计算方法:凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$;免疫组织化学检测Bcl-2、NF- κ B蛋白在肝细胞中的表达情况,结果评定: NF- κ B主要在细胞膜或细胞浆出现棕褐色染色。Bcl-2主要在胞浆内着色,偶见核膜着色。每张切片取5个高倍镜视野(每个视野 >500 个细胞),分别计算阳性率,阳性率=阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

统计学处理 使用SPSS17.0软件进行统计学分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,不同时间段正常组与模型组比

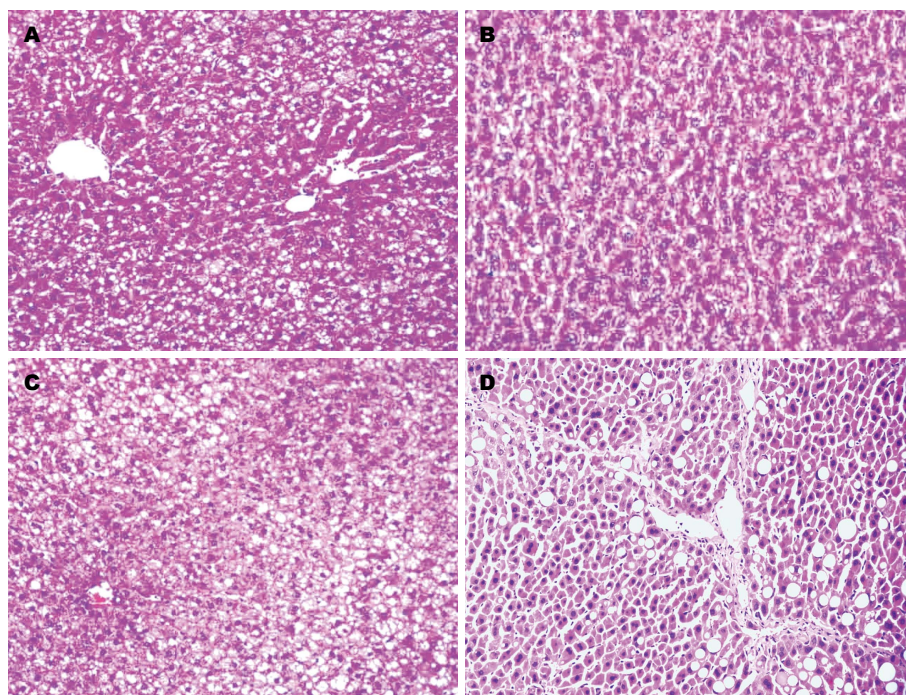


图 1 肝组织病理学结果(HE $\times 100$). A: 正常组; B: 第6周末模型组; C: 第10周末模型组; D: 第14周末模型组.

■相关报道

Feldstein通过对非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)患者肝组织活检标本应用TUNEL法检测肝细胞凋亡比单纯脂肪肝组或正常对照组显著增加,并随NASH炎症与纤维化严重程度增加而增加,而Nitchell等也发现在酒精性肝炎和非酒精性肝病以及相关的肝纤维化中,均有明显的肝细胞凋亡现象发生. Nan等在小鼠NASH实验模型中也证实此观点. 细胞核因子NF- κ B是一种具有多向性调节作用的蛋白质因子,有研究表明NF- κ B及其调控产物的过度表达在肝脏慢性炎症、肝纤维化的发生及发展中起重要作用. 已经有实验证明Bcl-2其作为NF- κ B的下游因子,可以通过该条途径起抗细胞凋亡作用.

较采用两样本均数比较的 t 检验,不同时间点模型组与模型组,正常组与正常组间比较采用方差分析,并进行方差齐性检验,方差齐者采用单因素方差分析.

2 结果

2.1 肝组织病理结果 各时间段(第6、10和14周)

正常组HE染色后的肝组织切片,肝小叶结构保持完整,模型组第6周大鼠肝小叶内33%以上的肝细胞可见脂肪变性,门管区及腺泡内未见明显炎性细胞浸润,无明显胶原纤维生成,无纤维化,属于脂肪肝变化肝细胞脂肪变阶段. 模型组第10周大鼠肝脏脂肪变肝细胞占总数的50%以上,部分在66%以上,腺泡3带明显气球样变,腺泡内见点状肝细胞坏死,门管区出现炎性细胞,属于非酒精性肝炎阶段. 造模组第14周可见程度不等的小叶内炎症、汇管区炎症,腺泡3带广泛气球样变,还有汇管区变性点状、灶状坏死,甚至部分坏死融合成片,门管区及门管区周围炎症明显,4/6只大鼠出现肝细胞窦周纤维化(图1).

2.2 肝细胞凋亡百分数结果 正常组在各时间段有散在凋亡阳性表达,模型组凋亡细胞表达明显高于正常组($P<0.01$),且随时间的延长表达逐渐增多($P<0.05$)(表1, 图2).

2.3 各组大鼠肝组织免疫组织化学测Bcl-2、NF- κ B蛋白的结果 Bcl-2主要在胞浆内着色,偶见核膜着色,正常组大鼠Bcl-2的表达均为部分肝细胞散在弱阳性表达;模型组第6周为肝细胞散在

阳性表达较对照组有所增强,造模组随时间的延长Bcl-2表达逐步增加,且脂肪变明显的区域阳性染色细胞较相对正常肝细胞染色深. NF- κ B细胞染色呈黄色或棕黄色为阳性,定位于细胞质和/或细胞核,模型组第6、10、14周大鼠肝细胞内可见NF- κ B明显活化,而且随造模时间延长,其表达随之增多(表2).

2.4 各组大鼠血浆TNF- α 测定 模型组各组大鼠血浆TNF- α 表达随造模时间的延长逐步增高,均高于同时段正常组TNF- α 表达($P<0.05$, 表3).

3 讨论

NAFLD是一类与代谢相关的肝脏疾病谱,其发病与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、肥胖、高甘油三酯血症和遗传易感性有密切关系^[6]其病理学改变与酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)相似,但无过量饮酒史^[7]. 病程包括单纯性脂肪肝及由演变而来的非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)和非酒精性脂肪性肝纤维化,最后可能导致肝硬化和肝癌、肝衰竭、移植肝复发等问题. 多个研究发现NAFLD存在肝细胞凋亡,并随病情进展加重. Feldstein等^[8]通过对NASH患者肝组织活检标本应用TUNEL法检测肝细胞凋亡比单纯脂肪肝组或正常对照组显著增加,并随NASH炎症与纤维化严重程度增加而增加,而Shimizu等^[9]也发现在酒精性肝炎和非酒精性肝病以及相关的肝纤维化中,均有明显的肝细胞凋亡现象发生.

■创新盘点

本实验通过改良高脂饮食建立非酒精性脂肪性肝病大鼠模型,并随着其病变进展在不同时间点观察肝细胞凋亡、炎症、纤维化以及相关的蛋白BCL-2、NF- κ B的表达情况,从而探讨以上两种相关蛋白在非酒精性肝病中的作用及其机制。

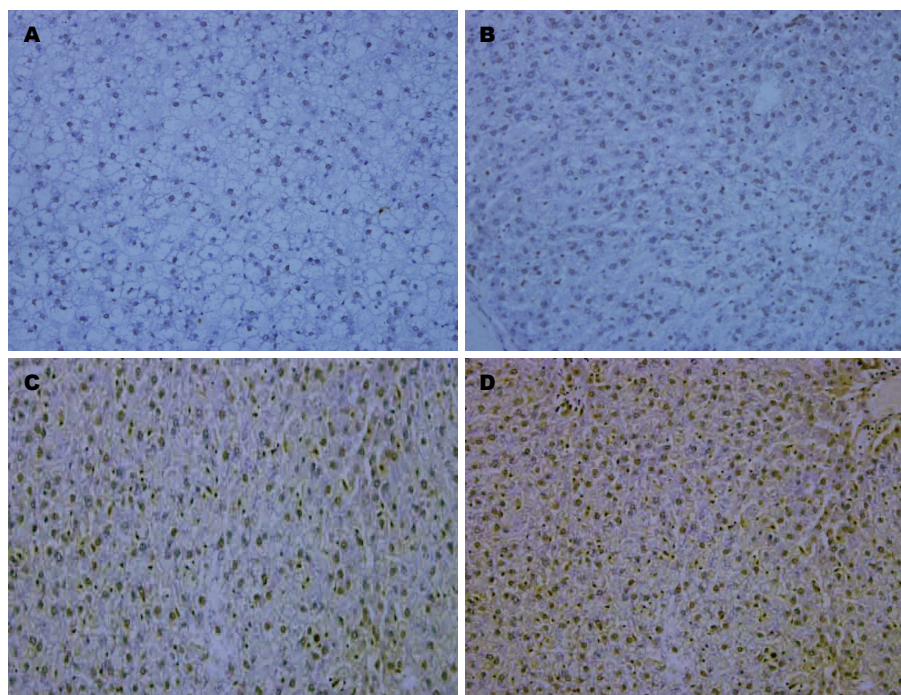


图2 肝细胞凋亡百分数结果(TUR \times 100). A: 正常组; B: 第6周末模型组; C: 第10周末模型组; D: 第14周末模型组。

表1 肝细胞凋亡指数 (mean \pm SD, %)

分组	第6周	第10周	第14周
正常组	1.11 \pm 0.15	1.26 \pm 0.11	1.15 \pm 0.20
模型组	11.15 \pm 0.82 ^{bce}	16.19 \pm 1.23 ^{be}	19.23 \pm 2.31 ^b

^b $P < 0.01$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组第10周; ^e $P < 0.05$ vs 模型组第14周。

表2 Bcl-2、NF- κ B蛋白在各组大鼠肝组织中的表达 (mean \pm SD, %)

分组	Bcl-2			NF- κ B		
	第6周	第10周	第14周	第6周	第10周	第14周
正常组	6.72 \pm 0.76	6.13 \pm 0.97	6.65 \pm 1.33	4.48 \pm 0.34	4.48 \pm 0.34	4.78 \pm 0.74
模型组	24.41 \pm 0.37 ^{bce}	43.18 \pm 1.58 ^{be}	74.34 \pm 0.75 ^b	29.61 \pm 3.21 ^{bce}	44.61 \pm 2.81 ^{be}	67.04 \pm 3.22 ^b

^b $P < 0.01$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组第10周; ^e $P < 0.05$ vs 模型组第14周。NF- κ B: 核因子 κ B。

Nan等^[10]在小鼠NASH实验模型中也证实此观点。本研究通过动态建立非酒精性肝病模型并测定不同时间点肝细胞凋亡百分数再次说明细胞凋亡在该病中占重要地位。

NAFLD肝细胞凋亡有3种途径: 由Fas、Fas-L介导的死亡受体途径、线粒体损伤途径和内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)途径。其中ERS为高同型半胱氨酸血症和氧化应激等因素所诱导的机体的一种保护机制^[11], 而线粒体损伤途径是NAFLD中肝细胞发生凋亡的中心环节, 是诱导肝细胞凋亡的执行人, 因为所有的信号物质均直接或间接地以线粒体为靶目标,

另两种途径均需要经过线粒体途径进一步放大。线粒体途径主要由NF- κ B介导的Bcl-2家族蛋白调控, 包括抑制凋亡的Bcl-2家族蛋白(如Bcl-2和Bcl-xL)和促进凋亡的Bcl-2家族蛋白(如Bid、Bax和Bak)。现阶段研究认为NF- κ B、Bcl-2信号途径在肝细胞凋亡中发挥着主导作用^[12]。

NF- κ B是一种能与免疫球蛋白 κ 链基因启动子序列特异性结合的核蛋白因子, 1986年在B淋巴细胞核提取物中首次发现, 属于NF- κ B/Rel家族一员。该家族包含2类共5种蛋白: NF- κ B1(p50)、NF- κ B2(p52); RelA(p65)、RelB、c-Rel, 他们可以两两之间形成同源或异源二聚

表 3 血浆TNF- α 测定结果 (μ g/L)

分组	TNF- α (μ g/L)		
	第6周	第10周	第14周
正常组	0.72 \pm 0.76	0.63 \pm 0.97	0.65 \pm 1.33
模型组	4.41 \pm 0.37 ^{bce}	18.32 \pm 1.58 ^{be}	21.34 \pm 0.75 ^b

^b $P < 0.01$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组第10周; ^e $P < 0.05$ vs 模型组第14周. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α .

体, NF- κ B多以p50和p65的异源二聚体形式存在, 由于p50、p65的前体包含有NF- κ B的抑制因子I κ B, 故在细胞静息状态下此异源二聚体尚与I κ B结合, 以保证NF- κ B处于失活状态. Rel家族蛋白同都有一个由300个氨基酸组成的氨基末端, 称为Rel同源区, 此区域即为Rel蛋白与DNA、其他细胞因子结合或形成二聚体的功能区, 该区域可以识别不同的 κ B序列而产生不同的细胞特性, 故NF- κ B活化后因刺激源的不同而结合不同的 κ B序列而产生多种生物学效应^[13].

本研究结果说明, 在模型组中, 随着造模时间的延长, 肝组织病理检查证明肝脏的脂肪变、炎症、纤维化的出现, 肝细胞凋亡的增多, NF- κ B、TNF- α 表达逐渐增加, 其机制可能因为NF- κ B二聚体的组成不同, 以及调控不同靶基因时DNA序列各异, NF- κ B对肝细胞凋亡调节具有抑制和诱导的双向作用, 其抑制凋亡作用主要通过包含Bcl-2家族蛋白在内的一系列与凋亡蛋白酶相作用的抗凋亡蛋白蛋白来实现. 如TNFR-associated factor: TRAF1、TRAF-2、JNK等^[14], 其中Bcl-2家族包括抗细胞凋亡的Bcl-2、Bcl-X1、BHRF1和促细胞凋亡的Bax、Bcl-Xs、Bad、Bak及参与细胞存活调节的Al、Mcl-1等. 有研究发现, Bcl-2、Bcl-X1基因上有 κ B结合位点, 而Bax、Bad则无该位点. NF- κ B激活可引起Bcl-2家族中抗细胞凋亡的基因表达增加, 进而发挥降低线粒体膜的通透性、抑制线粒体去极化及细胞色素C释放的抗凋亡作用^[15-17]. 活化的NF- κ B又能促进抗凋亡基因如FLICE抑制蛋白和X连锁凋亡抑制蛋白的转录, 这些抗凋亡蛋白可从不同水平干扰TNF引起的半胱天冬酶活化从而抑制肝细胞凋亡. 其次, NF- κ B活化后主要作用于TNF- α , 血清中TNF- α 与其受体TNF-R1结合, 刺激Bcl-2家族的另一促凋亡因子bid, bid介导bax改变自身构象, 并向线粒体移动, 插入线粒体内启动凋亡机制, 而ROS

增多亦能放大这一信号途径, 另外TNF- α 还可以通过死亡受体通路激活一系列caspase分子引起肝细胞凋亡^[18]并产生大量炎性介质, 激活bax等线粒体上的促凋亡蛋白, 导致肝细胞凋亡.

肝细胞凋亡是非酒精性肝病发病的中心环节已经得到肯定. 但是由于肝细胞凋亡是一把双刃剑, 有必要对其具体的调控环节, 特别是各种调控之间的关系进行深层次的研究, Bcl-2及其家族成员是调节肝细胞凋亡的核心机制之一, 而NF- κ B对Bcl-2家族蛋白的调节起着重要作用, 并通过改变抑制凋亡蛋白和促进凋亡蛋白的比值起双向调节作用, 可以利用促凋亡蛋白的抑制剂或者抑制凋亡蛋白的保护剂作为抗肝细胞凋亡的药物, 阻止肝细胞凋亡的过程, 延缓肝细胞的损伤, 炎症及纤维化的发生, 以期待对NAFLD的治疗有新的方法.

4 参考文献

- Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 883-889 [PMID: 17402991 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03246.x]
- Delgado JS. Evolving trends in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Intern Med* 2008; 19: 75-82 [PMID: 18249301 DOI: 10.1016/j.ejim.2007.02.034]
- Fan JG, Saibara T, Chitturi S, Kim BI, Sung JJ, Chutaputti A. What are the risk factors and settings for non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific? *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 794-800 [PMID: 17498218 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04952.x]
- Nishitani Y, Okazaki S, Imabayashi K, Katada R, Umetani K, Yajima H, Matsumoto H. Saturated and monounsaturated fatty acids increase interleukin-10 production in rat hepatocytes. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi* 2007; 42: 32-35 [PMID: 17447468]
- Chen DF, Wang CH. [The relationship between the opening of mitochondrial permeability transition pores of cultured hepatocytes with their apoptoses in a non-alcoholic fatty liver disease model]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2007; 15: 837-839 [PMID: 18073067]
- Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Clore JN. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-1192 [PMID: 11266382 DOI: 10.1053/gast.2001.23256]
- 中华医学会. 非脂肪性肝酒精性病诊疗指南. *中华肝脏杂志* 2010; 18: 163-170
- Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003; 125: 437-443 [PMID: 12891546 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00907-7]
- Shimizu I, Kohno N, Tamaki K, Shono M, Huang HW, He JH, Yao DF. Female hepatology: favorable role of estrogen in chronic liver disease with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2007; 13:

■应用要点

通过NF- κ B、Bcl-2在大鼠NAFLD中的表达, 研究线粒体损伤途径在肝细胞凋亡中的作用及NAFLD的发病机制, 进一步揭示了细胞凋亡在该病中占有重要地位, 而NF- κ B可能是发病的中心环节.

■同行评价

本文研究了大鼠NAFLD模型的相关凋亡因子,对揭示肝细胞凋亡与NAFLD发病机制具有一定的参考意义。

- 4295-4305 [PMID: 17708600]
- 10 Nan YM, Wu WJ, Yao XX, Wang L. [The role of apoptosis and the related genes in non-alcoholic steatohepatitis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2007; 15: 41-46 [PMID: 17244458]
- 11 吴涛, 季光, 郑培永, 柳涛. 内质网应激与肝细胞凋亡. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2507-2515
- 12 Moniaux N, Song H, Darnaud M, Garbin K, Gigou M, Mitchell C, Samuel D, Jamot L, Amouyal P, Amouyal G, Bréchet C, Faivre J. Human hepatocarcinoma-intestine-pancreas/pancreatitis-associated protein cures fas-induced acute liver failure in mice by attenuating free-radical damage in injured livers. *Hepatology* 2011; 53: 618-627 [PMID: 21274882 DOI: 10.1002/hep.24087]
- 13 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597 [PMID: 17661407 DOI: 10.1002/hep.21802]
- 14 Kucharczak J, Simmons MJ, Fan Y, Gélinas C. To be, or not to be: NF-kappaB is the answer--role of Rel/NF-kappaB in the regulation of apoptosis. *Oncogene* 2003; 22: 8961-8982 [PMID: 14663476 DOI: 10.1038/sj.onc.1207230]
- 15 Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326 [PMID: 9735050 DOI: 10.1126/science.281.5381.1322]
- 16 Luo X, Budihardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell* 1998; 94: 481-490 [PMID: 9727491 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81589-5]
- 17 Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 1998; 94: 491-501 [PMID: 9727492 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81590-1]
- 18 Baranova A, Schlauch K, Gowder S, Collantes R, Chandhoke V, Younossi ZM. Microarray technology in the study of obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2005; 25: 1091-1096 [PMID: 16343057 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01183.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

角质细胞生长因子对胰腺癌细胞生物学行为的影响

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

金益峰, 硕士, 主要从事腹部外科学的研究。

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20092131

作者贡献分布: 金益峰与周建平对此文所作贡献均等; 此课题由金益峰、周建平及张丹华设计; 董明与盛伟伟提供修改意见; 相关文献资料的收集由金益峰与张丹华完成; 相关实验操作及数据分析由金益峰与盛伟伟完成; 本文写作由金益峰与周建平完成。

通讯作者: 周建平, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。

zjphama@163.com

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-05-26

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Role of KGF in regulating biological behavior of pancreatic cancer cells

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Department of General Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-05-26

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To examine the role of keratinocyte growth factor (KGF) in regulating the biological behavior of pancreatic cancer cells.

METHODS: Immunoblotting (IB) and polymerase chain reaction (PCR) were used to detect the protein and mRNA levels of KGF and its receptor in six pancreatic cancer cell lines (CaPan-2, BxPc-3, MIAPaca-2, ASPc-1, SW-1990, and PANC-2). MTT, migration and invasion assays were used to detect the role of KGF in regulating cell proliferation, migration and invasion in pancreatic cancer cell line BxPC-3.

RESULTS: The protein level of KGF was lower in BxPC-3 cells than in other five pancreatic cancer cell lines, while the mRNA level of KGFR

was higher in BxPC-3 cells than in other five cell lines. KGF could significantly promote BxPc-3 cell proliferation, migration and invasion (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: KGF can promote cell proliferation, migration and invasion in some pancreatic cancer cell lines.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Neoplasms; Pancreatic cancer; Keratinocyte growth factor

Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M. Role of KGF in regulating biological behavior of pancreatic cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1961-1965
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1961.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1961>

摘要

目的: 探讨角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)对胰腺癌细胞生物学功能的影响。

方法: 运用免疫印迹和聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测6株胰腺癌细胞系(CaPan-2、BxPc-3、MIAPaca-2、ASPC-1、SW-1990、PANC-2)中KGF蛋白的表达和角质细胞生长因子受体(keratinocyte growth factor-receptor, KGFR) mRNA的表达水平。并运用MTT、细胞迁移及侵袭实验检测KGF对胰腺癌细胞株(BxPC-3)增殖、迁移及侵袭的影响。

结果: 免疫印迹和PCR显示, KGF在BxPC-3中的表达水平明显低于其他5株细胞系, 而其受体mRNA在BxPC-3细胞中的表达水平明显高于其余5株细胞系。KGF能够明显促进BxPC-3细胞的增殖($P < 0.01$)。并且能够明显增加BxPC-3细胞的迁移及侵袭能力($P < 0.01$)。

结论: 在部分胰腺癌细胞系中, KGF能够促进细胞的增殖, 并能够增加其迁移及侵袭能力。

© 2013年版权归Baishideng所有。

■背景资料

胰腺导管腺癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率有增高的趋势。而其手术切除率低, 术后复发率高, 对放疗不敏感, 预后差。至今没有有效的治疗手段及预后评价标准。近年来, 随着肿瘤微环境与肿瘤发生发展关系的相关研究不断深入, 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在肿瘤中的作用也逐步受到重视。

■同行评议者

郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所; 汪思应, 教授, 安徽医科大学

■研究前沿

KGF可以刺激不同类型肿瘤细胞的迁移和侵袭,肿瘤间质分泌的KGF可能与肿瘤的恶性程度有关,是肿瘤转移进展的重要分子。KGF mRNA及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,而在良性前列腺增生、食管、胰腺和大肠癌组织中也有表达。KGF产生作用的确切机制仍然尚不十分明确。

■相关报道

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma)是一种常见的恶性肿瘤,其5年生存率低于5%。不良预后与该病自身生物学行为特点有关,以及早期诊断困难、手术切除率低、术后复发率高有关,并且对化疗和放疗都不敏感。KGF是肿瘤转移进展的重要分子,而且KGF及其受体在多种上皮组织来源的肿瘤细胞系中均有发现。

关键词: 肿瘤; 胰腺癌; 角质细胞生长因子

核心提示: 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)及其受体在不同胰腺癌细胞系中表达程度不一。KGF能够促进胰腺癌细胞的增殖,并能够增加其迁移及侵袭能力。为胰腺癌患者评价预后及应用于抗肿瘤靶向治疗提供新的思路。

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明. 角质细胞生长因子对胰腺癌细胞生物学行为的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1961-1965 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1961.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1961>

0 引言

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种常见的恶性肿瘤,其发病率有明显增高的趋势。40岁以上好发,男性多于女性。尽管近十年来对PDAC患者的干预及治疗有了巨大改善,但是90%的患者仍在诊断后1年内死亡,其5年生存率仅为1%-3%。胰腺癌常见淋巴转移和癌浸润,还可以发生癌肿远端的胰管内转移和腹腔种植转移、血行转移等。其不良预后与该病早期诊断困难以及早期即出现的浸润和转移,手术切除率低,术后复发率高有关,而且PDAC对于化疗和放疗都不敏感^[1]。

近年来,随着肿瘤微环境与肿瘤发生发展关系的相关研究不断深入,角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在肿瘤中的作用也逐步受到重视。KGF可以刺激不同类型上皮来源的肿瘤细胞的迁移和侵袭,表明了其与肿瘤发生的密切关系。肿瘤间质分泌的KGF可能与肿瘤的恶性程度有关,是肿瘤转移进展的重要分子^[2]。KGF mRNA及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现^[3-5]。而在胰腺癌研究中报道较少^[6-9]。本研究旨在探讨KGF对胰腺癌细胞生物学功能的影响及可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 胰腺癌细胞系AsPC-1、BxPC-3、SW-1990及PANC-2购自中科院上海细胞库; Capan-2细胞购自美国ATCC公司; Miapaca-2来自我校细胞生物实验室馈赠; 细胞以10%胎牛血清1640培养液进行培养(HyClone, 美国); KGF羊抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司sc-1366); KGF购自美国R&D公司; MTT及DMSO购自美国Sigma公司; Transwell小室和基质胶均购自美

国BD公司; 蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、上样缓冲液、BCA定量及ECL发光试剂盒均购自上海碧云天生物公司; RNA分离试剂盒TRIzol、逆转录试剂盒(DRR037S)、PCR反应试剂盒等购自日本Takara公司。

1.2 方法

1.2.1 Western blot印迹: 提取胰腺癌细胞系蛋白,经BCA定量试剂盒测定蛋白浓度,样品均定量为5 μg/μL,每泳道上样50 μg,经12%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转移至PVDF膜。5%脱脂奶粉封闭2 h,加入KGF(1:100)4℃孵育过夜,羊二抗(1:4000)室温孵育1.5 h。ECL发光并以凝胶显像仪(MF-chemibis 3.2 DNR,以色列)显像。

1.2.2 PCR: 采用RNA分离试剂盒TRIzol提取并纯化组织总RNA。所有RNA样本浓度均稀释至1 μg/μL,根据Takara逆转录和扩增试剂盒说明书进行逆转录和扩增。角质细胞生长因子受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR)的PCR参数为: 95℃预变性5 min,进入PCR循环: 95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 1 min, 30个循环,最后72℃延伸5 min。2%琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶显像仪(SYNGENE G: BOX, 英国)成像。以GAPDH作为内参照,与目的产物进行比较,对PCR产物相对定量。KGFR和GAPDH引物均由Takara公司设计,上海生工合成。KGFR上游引物5'-CTCAAGCACTCGGGGATAAA-3'; 下游引物5'-CTGTGTTTGGCAGGACAGTGA-3'; GAPDH上游引物5'-CCACCCATGGCAAATTCCTCATG-GCA-3'; 下游引物5'-TCTAGACGGCAGGT-CAGGTCCACC-3'。

1.2.3 MTT实验: 胰腺癌细胞株(BxPC-3)以6-8×10⁴/mL细胞数,100 μL体系均匀加入96孔板中培养6-8 h。待贴壁后加入不同浓度的KGF(浓度梯度见结果部分)。48 h后每孔加入10%MTT液(5 mg/mL)置37℃孵育4 h。弃去上清后加入100 μL DMSO,摇床震荡20 min。用酶标定量仪在试验波长570 nm,参考波长为450 nm下测定吸光度(A)值。细胞存活率 = (实验组A值-调零孔A值)/(对照组A值-调零孔A值) × 100%。

1.2.4 细胞迁移及侵袭实验: 取对数生长期的胰腺癌细胞株加入24孔板中,6-8 h贴壁后换液加入终浓度为100 μmol/L KGF培养基,48 h后收集细胞,调整适宜细胞密度接种于铺有基质胶(未铺入基质胶即为迁移实验)的Transwell小室的上室(24孔板),其下室中加入含10%胎牛血清1640

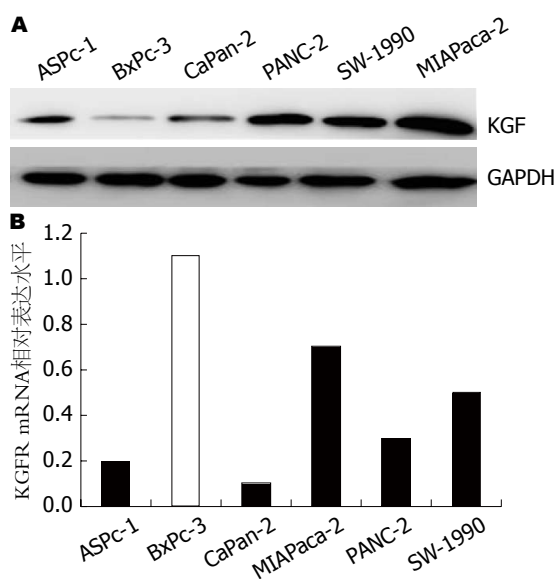


图1 KGF蛋白及KGF mRNA在6株胰腺癌细胞系中的表达情况。A: KGF蛋白在6株胰腺癌细胞系中的表达; B: KGF mRNA在6株胰腺癌细胞系中的表达情况。KGF: 角质细胞生长因子; KGF: 角质细胞生长因子受体。

培养液置37℃、5%CO₂湿化孵箱中培养24 h。棉签擦净Transwell膜上室面细胞, 4%多聚甲醛固定30 min, 结晶紫染色25 min, 200倍光镜下计数膜上下左右中5个不同视野的穿过膜的细胞数, 取均值, 以迁移过的细胞数目来表示肿瘤细胞的侵袭及迁移能力, 实验重复3次。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件, 细胞增殖、凋亡、侵袭力差异比较均采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KGF蛋白和KGF mRNA在6株胰腺癌细胞系中的表达水平 在6株胰腺癌细胞系中, KGF与KGF mRNA的表达水平存在差异, 并且KGF蛋白在BxPC-3细胞株中的表达水平明显低于CaPan-2、BxPC-3、MIAPaca-2、ASPC-1、SW-1990和PANC-2细胞株, 而其受体mRNA的表达水平明显高于其他5组细胞株(图1)。

2.2 细胞增殖检测 筛选BxPC-3细胞研究KGF的促增殖作用。与对照组相比(无血清培养基替代KGF), 实验组加入不同浓度梯度的KGF。结果发现KGF能够显著增加BxPC-3细胞的增殖($P<0.01$), 并且我们发现这种促增殖效果在KGF浓度为25 μmol/L时最为明显(图2)。

2.3 细胞迁移及侵袭检测 选用BxPC-3细胞进行实验, 观察发现于对照组相比, 100 μmol/L KGF处理细胞后能够显著增加BxPC-3胰腺癌细胞株的迁移能力, 同样100 μmol/L KGF处理细胞也能

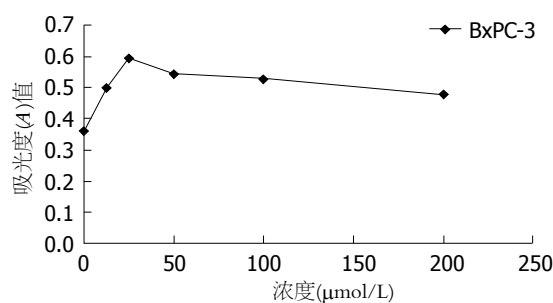


图2 MTT法检测不同浓度角质细胞生长因子对BxPC-3细胞增殖的影响。

增加肿瘤细胞的侵袭能力。两项实验分别进行细胞计数并行统计学分析后发现, 迁移实验和侵袭实验中的实验组与对照组的细胞计数差异均具有统计学意义($P<0.01$)(图3)。

3 讨论

KGF首次由Rubin等^[10]在1989年从人胚胎肺成纤维细胞的培养液中提纯得到, 是一种单链多肽, 分子量在26-28 kDa。他是成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族中的一员, 又被称作FGF-7, 并且与其他FGF家族成员具有30%-70%氨基酸序列同源性^[11]。KGF表达于多种组织来源的间质细胞中, 如肺、乳腺、前列腺、胰腺和胃肠道等^[12-15]。在与其受体特异性结合后可促进上皮细胞DNA的合成、增殖和迁移, 并且与创伤修复及胚胎发育有关^[16-20]。不仅作为一个促有丝分裂原, 在不同的细胞中还能诱导其分化, 这个作用依据不同肿瘤的组织学类型。如在动物试验中发现, KGF可诱导转基因小鼠乳腺上皮细胞的增生并最终发展成乳腺癌。在进行体外培养时, 发现KGF可促进雌激素受体阳性乳腺癌细胞及前列腺癌细胞的增殖、运动和侵袭能力^[17,21]。此外还有研究表明KGF或KGF与其受体的协同表达与胰腺癌的不良预后以及转移有关^[22]。

本研究中, 首先通过Western印迹及PCR发现, KGF蛋白和KGF mRNA的表达在6株胰腺癌细胞株存在差异。为了排除肿瘤细胞内源性KGF分泌对实验的影响, 我们借此实验在6株胰腺癌细胞系中筛选出KGF蛋白低表达且其受体KGF mRNA相对高表达的BxPC-3细胞株。通过MTT实验发现, 不同浓度的KGF均可增加胰腺癌细胞(BxPC-3)的增殖能力, 而这种促增殖效果并不随着浓度增加一直升高, 而是达到一定浓度后, 增殖效果达到峰值, 随后反而下降。但是, 方差分析发现KGF处理组与对照组相比, 细胞数的

■创新盘点

本文运用Western blot和PCR法检测6株胰腺癌细胞系中KGF蛋白的表达和其受体mRNA的表达水平, 并运用MTT、细胞迁移及侵袭实验检测KGF对胰腺癌细胞株(BxPC-3)增殖、迁移及侵袭的影响, 重点从细胞学水平探讨了KGF对胰腺癌细胞生物学功能的影响。

■应用要点

KGF能够促进肿瘤细胞的增殖,并能够增加其迁移及侵袭能力。因此针对KGF及其受体的靶向抑制剂可能对胰腺癌的发生发展有重要抑制作用。提示其在作为抗肿瘤治疗的靶向位点上具有应用前景。但尚需更完善的体内及体外实验研究进一步明确KGF的作用原理及调控方式。

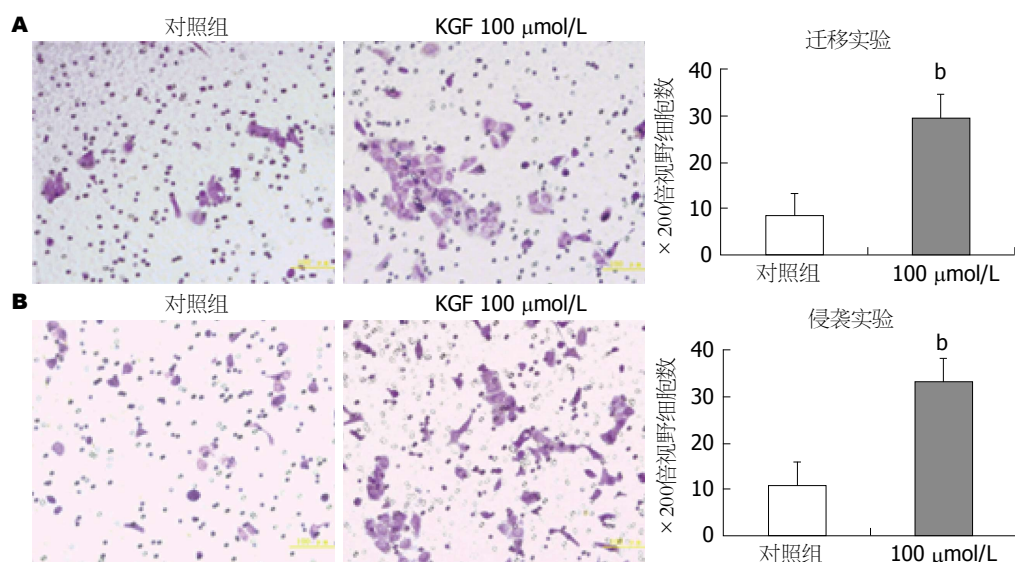


图3 KGF对BxPC-3细胞系迁移及侵袭能力的影响。A: BxPC-3细胞对照组和KGF处理组迁移能力差异; B: 对照组和KGF处理组侵袭能力的差异。^b $P < 0.01$ vs 对照组。KGF: 角质细胞生长因子。

差异具有统计学意义。通过Transwell实验发现, KGF可以显著促进BxPC-3细胞的迁移及侵袭能力。有趣的是, 在MTT实验中KGF促增殖效果在25 μmol/L时最为明显, 随着浓度的增高其促增殖效果反而下降, 而在进行Transwell实验中我们进一步发现, 其促进迁移及侵袭能力的效果在100 μmol/L时最为明显(迁移及侵袭能力与浓度的关系本研究中未予以体现)。国内外研究尚未见类似相关报道。

总之, KGF蛋白和KGFR mRNA的表达在胰腺癌细胞系中存在差异, 而对于KGF相对低表达, KGFR相对高表达的BxPC-3细胞株, KGF能够促进细胞增殖、迁移及侵袭。本实验没有在6株胰腺癌细胞系之间进行比较, 处理因素的浓度与肿瘤细胞生物学行为的关系曲线也以待进一步完善。目前研究发现, KGFR酪氨酸激酶抑制剂(一种高选择高效的KGFR抑制剂)可以抑制KGF介导的细胞运动并减少乳腺癌细胞中KGFR的表达^[23]。此外KGFR磷酸化抑制剂Ki23057已在胆道癌细胞中被证实可抑制其活性^[24]。因此我们认为, 针对KGF及其受体的靶向抑制剂可能对胰腺癌的发生发展有重要抑制作用, 但其具体机制以及是否能真正应用于抗肿瘤靶向治疗仍有待于更完善的体内及体外实验研究。

4 参考文献

- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Nguyen TN, Zang XP, Pento JT. Keratinocyte

growth factor stimulates the migration and proliferation of breast cancer cells in a culture wounding model. *Pharmacol Res* 2002; 46: 179-183 [PMID: 12220958 DOI: 10.1016/S1043-6618(02)00085-3]

- Große R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 179-186 [PMID: 15863033 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2005.01.003]
- Yamayoshi T, Nagayasu T, Matsumoto K, Abo T, Hishikawa Y, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7 and its receptor in human lung cancer: correlation with tumour proliferative activity and patient prognosis. *J Pathol* 2004; 204: 110-118 [PMID: 15307144 DOI: 10.1002/path.1617]
- Hishikawa Y, Tamaru N, Ejima K, Hayashi T, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human breast cancer: its inhibitory role in the induction of apoptosis possibly through the overexpression of Bcl-2. *Arch Histol Cytol* 2004; 67: 455-464 [PMID: 15781986 DOI: 10.1679/aohc.67.455]
- Ropiquet F, Huguenin S, Villette JM, Ronflé V, Le Brun G, Maitland NJ, Cussenot O, Fiet J, Berthon P. FGF7/KGF triggers cell transformation and invasion on immortalised human prostatic epithelial PNT1A cells. *Int J Cancer* 1999; 82: 237-243 [PMID: 10389758 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19990719)82:2<237::AID-IJC14>3.0.CO;2-Q]
- Cho K, Matsuda Y, Ueda J, Uchida E, Naito Z, Ishiwata T. Keratinocyte growth factor induces matrix metalloproteinase-9 expression and correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2012; 40: 1040-1048 [PMID: 22159401 DOI: 10.3892/ijo.2011.1280]
- Ishikawa A, Kudo M, Nakazawa N, Onda M, Ishiwata T, Takeshita T, Naito Z. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human endometrial cancer in cooperation with steroid hormones. *Int J Oncol* 2008; 32: 565-574 [PMID: 18292933]
- Narita K, Fujii T, Ishiwata T, Yamamoto T, Kawamoto Y, Kawahara K, Nakazawa N, Naito Z. Keratinocyte growth factor induces vascular endothelial

- growth factor-A expression in colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 355-360 [PMID: 19148469 DOI: 10.3892/ijo_00000158]
- 10 Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 802-806 [PMID: 2915979]
- 11 The fibroblast growth factor family. Nomenclature meeting report and recommendations. January 17, 1991. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 638: xiii-xxvi [PMID: 1785794 DOI: 10.1111/j.1749-6632.1991.tb49011.x]
- 12 Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M, Miki T, Ron D, Cunha GR, Finch PW. Keratinocyte growth factor as a cytokine that mediates mesenchymal-epithelial interaction. *EXS* 1995; 74: 191-214 [PMID: 8527895 DOI: 10.1007/978-3-0348-9070-0_10]
- 13 Lendvay TS, Sweet R, Han CH, Soygur T, Cheng JF, Plaire JC, Charleston JS, Charleston LB, Bagai S, Cochrane K, Rubio E, Bassuk JA. Compensatory paracrine mechanisms that define the urothelial response to injury in partial bladder outlet obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1147-F1156 [PMID: 17609292 DOI: 10.1152/ajprenal.00006.2007]
- 14 Pedchenko VK, Imagawa W. Pattern of expression of the KGF receptor and its ligands KGF and FGF-10 during postnatal mouse mammary gland development. *Mol Reprod Dev* 2000; 56: 441-447 [PMID: 10911393 DOI: 10.1002/1098-2795(200008)56:4<441::AID-MRD1>3.0.CO;2-C]
- 15 Bates CM. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F245-F251 [PMID: 21613421 DOI: 10.1152/ajprenal.00186.2011]
- 16 Mondrinos MJ, Koutzaki S, Lelkes PI, Finck CM. A tissue-engineered model of fetal distal lung tissue. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L639-L650 [PMID: 17526596 DOI: 10.1152/ajplung.00403.2006]
- 17 Gomperts BN, Belperio JA, Fishbein MC, Keane MP, Burdick MD, Strieter RM. Keratinocyte growth factor improves repair in the injured tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 48-56 [PMID: 17332441 DOI: 10.1165/rcmb.2006-0384OC]
- 18 Jenq RR, King CG, Volk C, Suh D, Smith OM, Rao UK, Yim NL, Holland AM, Lu SX, Zakrzewski JL, Goldberg GL, Diab A, Alpdogan O, Penack O, Na IK, Kappel LW, Wolchok JD, Houghton AN, Perales MA, van den Brink MR. Keratinocyte growth factor enhances DNA plasmid tumor vaccine responses after murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009; 113: 1574-1580 [PMID: 19011222 DOI: 10.1182/blood-2008-05-155697]
- 19 Werner S, Peters KG, Longaker MT, Fuller-Pace F, Banda MJ, Williams LT. Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 6896-6900 [PMID: 1379725]
- 20 Braun S, Krampert M, Bodó E, Kümin A, Born-Berclaz C, Paus R, Werner S. Keratinocyte growth factor protects epidermis and hair follicles from cell death induced by UV irradiation, chemotherapeutic or cytotoxic agents. *J Cell Sci* 2006; 119: 4841-4849 [PMID: 17090603 DOI: 10.1242/jcs.03259]
- 21 Chang HL, Sugimoto Y, Liu S, Wang LS, Huang YW, Ye W, Lin YC. Keratinocyte growth factor (KGF) regulates estrogen receptor-alpha (ER-alpha) expression and cell apoptosis via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway in human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2009; 29: 3195-3205 [PMID: 19661335]
- 22 Cho K, Ishiwata T, Uchida E, Nakazawa N, Kora M, Naito Z, Tajiri T. Enhanced expression of keratinocyte growth factor and its receptor correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Am J Pathol* 2007; 170: 1964-1974 [PMID: 17525264 DOI: 10.2353/ajpath.2007.060935]
- 23 Mehta M, Kesinger JW, Zang XP, Lerner ML, Brackett DJ, Brueggemeier RW, Li PK, Pento JT. Influence of novel KGFR tyrosine kinase inhibitors on KGF-mediated proliferation of breast cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 4883-4889 [PMID: 21187466]
- 24 Amano R, Yamada N, Doi Y, Yashiro M, Ohira M, Miwa A, Hirakawa K. Significance of keratinocyte growth factor receptor in the proliferation of biliary tract cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 4115-4121 [PMID: 21036728]

■同行评价

本文探讨了KGF对胰腺癌细胞生物学功能的影响,具有一定的意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



pAcGFP1-N1-FOXQ1真核表达载体的构建及在大肠癌细胞系Colo-320中的表达

岳柯琳, 唐慧, 郭强

■背景资料

FOXQ1 (homo sapiens forkhead box Q1) 基因是一转录因子, 在大肠癌组织中高表达, 在抗细胞凋亡和血管生成中发挥作用, *FOXQ1* 基因表达异常增高可促进肿瘤细胞的转移及浸润。

岳柯琳, 郭强, 昆明医科大学, 云南省第一人民医院(昆明理工大学附属医院)消化内科 云南省昆明市 650032

唐慧, 云南省第一人民医院(昆明理工大学附属医院)临床基础医学研究所 云南省昆明市 650032

岳柯琳, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础研究和消化内镜的临床应用。

国家自然科学基金资助项目, No. 81260323

云南省科技厅-昆明医科大学联合基金资助项目, No. 2012FB095

云南省教育厅科学研究基金项目, No. 2012J004

云南省卫生厅基金资助项目, No. 2010NS014

作者贡献分布: 此课题由郭强与唐慧设计; 研究过程由岳柯琳操作完成; 唐慧负责实验指导; 郭强与唐慧负责论文指导与修改; 论文写作由岳柯琳完成。

通讯作者: 郭强, 主任医师, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 云南省第一人民医院消化内科。gqkj003@sina.com

电话: 0871-3638772 传真: 0871-3648772

收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-06-02

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Construction of a eukaryotic expression vector expressing FOXQ1 and its expression in colorectal cancer cell line Colo-320

Ke-Lin Yue, Hui Tang, Qiang Guo

Ke-Lin Yue, Qiang Guo, Department of Gastroenterology, Kunming Medical University, the First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of Kunming Technology and Science University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Hui Tang, Institute of Basic Medicine, the First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of Kunming Technology and Science University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260323; the Joint Foundation of Science and Technology Department of Yunnan Province and Kunming Medical University, No. 2012FB095; the Scientific Research Projects of Yunnan Provincial Education Department, No. 2012J004; the Foundation of Yunnan Provincial Health Department, No. 2010NS014

Correspondence to: Qiang Guo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of Kunming Technology and Science University, 157 Jinbi Street, Kunming 650032, Yunnan Province, China. gqkj003@sina.com

Received: 2013-04-23 Revised: 2013-06-02

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To construct a eukaryotic expression vector

expressing *FOXQ1* (pAcGFP1-N1-FOXQ1) and investigate its transient expression in colorectal cancer cell line Colo-320.

METHODS: The full-length *FOXQ1* cDNA sequence was amplified from the plasmid containing full-length *FOXQ1* cDNA (NM_033260) and inserted into eukaryotic expression vector pAcGFP1-N1. The resulting pAcGFP1-N1-FOXQ1 plasmid was identified by PCR, double digestion and DNA sequencing. The constructed plasmid was then transfected into colorectal cancer cell line Colo-320 using Lipofectamine 2000, and transfection efficiency was assessed by fluorescence microscopy. The expression level of *FOXQ1* protein was detected by Western blot.

RESULTS: Eukaryotic expression vector pAcGFP1-N1-FOXQ1 was constructed successfully and verified by PCR, double digestion and DNA sequencing. The constructed vector could express mature *FOXQ1* protein correctly in colorectal cancer cell line Colo-320.

CONCLUSION: Successful construction of the eukaryotic expression vector pAcGFP1-N1-FOXQ1 provides an experimental basis for further study of functions of the *FOXQ1* gene in tumorigenesis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *FOXQ1* gene; pAcGFP1-N1 plasmid; Construction

Yue KL, Tang H, Guo Q. Construction of a eukaryotic expression vector expressing *FOXQ1* and its expression in colorectal cancer cell line Colo-320. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1966-1971 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1966.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1966>

摘要

目的: 构建人*FOXQ1* (homo sapiens forkhead box Q1) 基因真核表达载体pAcGFP1-N1-FOXQ1, 并在大肠癌细胞系Colo-320中瞬时表达。

■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

方法: 利用PCR方法从YR Gene装载了FOXQ1基因全长cDNA序列(NM_033260)的质粒中扩增出FOXQ1的cDNA片段, 与真核表达载体pAcGFP1-N1连接, 重组质粒经PCR、双酶切和测序鉴定无误后, 采用Lipofectamine 2000瞬时转染Colo-320细胞, 应用荧光显微镜观察转染效率、Western blot检测FOXQ1蛋白表达水平。

结果: 成功构建了真核表达载体pAcGFP1-N1-FOXQ1, PCR、双酶切和测序鉴定结果均正确, 载体能在Colo-320细胞中正确表达FOXQ1蛋白。

结论: 成功构建FOXQ1真核表达载体, 为进一步开展体内、体外实验, 研究FOXQ1基因在肿瘤发生发展中的功能奠定了实验基础。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: FOXQ1基因; pAcGFP1-N1质粒; 构建

核心提示: 研究FOXQ1(homo sapiens forkhead box Q1)基因在大肠癌肿瘤生成中的功能及其分子机制, 有望发现FOXQ1基因参与的与大肠癌发生发展密切相关的信号通路及其下游靶分子, 为寻找新的大肠癌治疗靶点奠定基础。

岳柯琳, 唐慧, 郭强. pAcGFP1-N1-FOXQ1真核表达载体的构建及在大肠癌细胞系Colo-320中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1966-1971 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1966.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1966>

0 引言

叉头框蛋白(forkhead box, FOX)家族, 是一类进化保守的转录调控因子家族^[1], 发挥广泛的生物学效应, 不仅在胚胎发育过程中起关键性的调控作用, 与动物的生长发育、免疫调控等生命过程密切相关^[2], 近年来, FOX基因家族在肿瘤发生发展中的重要作用逐渐凸显, 众多FOX家族成员通过其参与的多条信号通路成为肿瘤靶向治疗的直接或间接的作用靶点^[3,4]. FOXQ1(homo sapiens forkhead box Q1)基因属于FOXQ亚族成员之一, 在多种组织中广泛表达, 作为一类转录调控因子, 可通过识别并结合相关下游靶基因的近端或远端顺式作用元件, 实现对众多下游靶基因表达水平的正向或负向调控. 为了更好地研究FOXQ1基因在肿瘤发生发展中的作用, 本研究成功构建了pAcGFP1-N1-

FOXQ1真核表达载体, 为进一步开展体内、体外实验, 研究其在肿瘤发生发展中的功能奠定了坚实的实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 pAcGFP1-N1真核表达质粒由中国科学院昆明动物研究所馈赠; 大肠癌细胞系Colo-320购自中国科学院细胞库; 装载有FOXQ1基因cDNA全长的质粒购自YR Gene公司; 大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) DH-5 α 感受态细胞、质粒小提试剂盒及无内毒素质粒大提试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; Kpn I 酶、Sac I 酶、CIAP酶、T4 DNA连接酶、TaKaRa LA Taq(with GC Buffer)、DNA凝胶回收试剂盒、西班牙琼脂糖(Biowest Agarose)均购自宝生物工程(大连)有限公司; 鼠抗人FOXQ1抗体和兔抗人 β -actin抗体均购自Abcam公司; HRP-Goat Anti-Mouse IgG(H+L)与HRP-Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)均购自Proteintech公司; 6孔细胞培养板购自BD falcon公司; RPMI 1640培养基购自Hyclone公司; 澳洲特级胎牛血清和青霉素-链霉素溶液购自Bioind公司; 0.05%胰蛋白酶购自Hyclone公司; Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司; Tween-20购自Amresco; 疏水性PVDF转印膜购自Millipore公司; 脱脂奶粉购自完达山公司; 细胞蛋白提取液、蛋白酶抑制剂混合物III型、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒及SDS蛋白上样缓冲液均购自武汉博士德生物工程有限公司; BCA蛋白定量试剂盒购自碧云天生物技术研究; SuperSignal West Pico HRP化学发光底物购自美国Pierce公司; 预染蛋白Marker购自Thermo公司; 琼脂糖凝胶成像及Western blot凝胶成像所用仪器为Chemidoc XRS化学发光成像系统; PCR扩增所用仪器为ABI 2720 PCR基因扩增仪; 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1 GFP观测所用显微镜为XYS-13三目落射荧光显微镜; 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1测序由北京天根公司完成。

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成: 根据FOXQ1基因序列(NM_033260)设计引物: 上游引物: FOXQ1_F: 5'-CCGAGCTCGCCACCATGAAGTTGGAG-GTGTTTCG-3'; FOXQ1_F₂: 5'-CCGAGCTCATGAAGTTGGAGGTGTTTCG-3'; 下游引物FOXQ1_R: 5'GCGGTACCGTGGCTAGGAGC-GTCTCCAC-3', 引物由上海生物工程有限公司

■ 研发前沿

FOXQ1基因在肿瘤发生发展中的重要作用在近年来的研究中逐渐凸显, 其表达改变与肿瘤的转移密切相关, 但该基因在大肠癌中的表达改变及其功能研究鲜见报道. 大肠癌的发病率和死亡率逐年上升, 为大肠癌基因治疗提供新的分子靶点是大肠癌研究的一个重要方向。

■ 相关报道

Kaneda、Myatt、郭强及唐慧等分别研究了FOXQ1基因在大肠癌组织中的表达,结果表明FOXQ1基因在大肠癌组织中高表达,并且与肿瘤转移密切相关。

合成,其中GAGCTC与GGTACC分别为*Sac* I及*Kpn* I的酶切位点,前面的碱基为保护性序列,ATG为起始密码子,FOXQ1_F上游引物中插入了Kozak序列,扩增片段全长约1200 bp。

1.2.2 FOXQ1基因的扩增及克隆:用购自YR Gene公司的FOXQ1 cDNA质粒为模板进行PCR扩增,PCR反应体积为50 μ L,含10 \times PCR反应Buffer 5.0 μ L; dNTP 各2.0 mmol/L;上下游引物各2.5 μ mol/L; Takara LA Taq酶5 U; DNA模板0.5 μ L; 其余加水补足。反应条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 66 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 20个循环后, 72 $^{\circ}$ C延伸7 min。PCR产物和载体pAcGFP1-N1分别经*Sac* I和*Kpn* I双酶切、载体pAcGFP1-N1双酶切产物再经CIAP去磷酸化后, 1.0%琼脂糖凝胶电泳,分别切胶纯化回收相应DNA片段;经酶切纯化的PCR产物和pAcGFP1-N1载体用T4DNA连接酶连接后,转化到*E. coli* DH5 α 感受态细菌中,涂布于LB培养板,37 $^{\circ}$ C孵育过夜,挑取细菌克隆提质粒。

1.2.3 pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒的鉴定: (1)PCR鉴定:将提取的pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒0.5 μ L作为模板,PCR反应体积为20 μ L,引物各2.5 μ mol/L, Takara LA Taq 0.1 μ L,反应条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 66 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 20个循环后, 72 $^{\circ}$ C延伸7 min。PCR反应完毕,取5 μ L进行琼脂糖凝胶电泳检测; (2)双酶切鉴定:酶切反应体系为20 μ L,含pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒4.0 μ L, *Sac* I和*Kpn* I各5.0 U和10 \times L Buffer 2.0 μ L,混匀后于37 $^{\circ}$ C水浴过夜, 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒的测序鉴定:经PCR和双酶切鉴定无误的pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒, F/R组及F₂/R组各选取5个质粒小提样本,送至北京天根测序,两组分别选取一个cDNA序列正确无误的质粒样本进行质粒的大提,用于后续的细胞转染。

1.2.5 pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒转染Colo-320细胞:以每孔 1.6×10^6 个细胞数铺板(六孔板),用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基(不含双抗)放置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养, 24 h后取出,参照Lipofectamine 2000说明书以DNA: Lipofectamine 2000 = 4 μ g: 8 μ L比例将重组质粒转染6孔板中的Colo-320细胞,待转染后6 h弃去转染的上清液,重新加入含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养基继续培养48 h。分为: (1)转染pAcGFP1-N1-FOXQ1质粒(F/R组、F₂/R组);

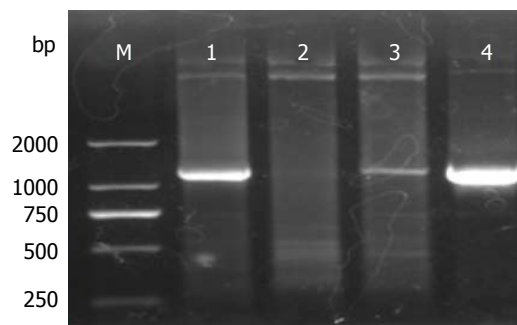


图1 FOXQ1基因(F/R组及F₂/R组)PCR产物。M: DNA marker (DL2000); 1, 2: F/R组; 3, 4: F₂/R组。

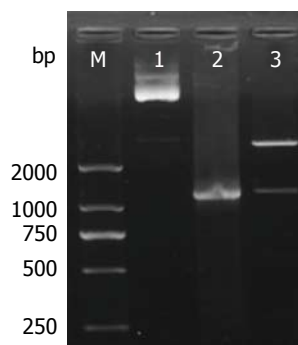


图2 重组质粒的PCR和双酶切鉴定。M: DNA marker (DL2000); 1: 质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1; 2: 重组质粒PCR鉴定产物; 3: 重组质粒双酶切鉴定产物。

(2)转染空质粒pAcGFP1-N; (3)未经任何处理的Colo-320细胞3个组。

1.2.6 蛋白的提取: 48 h后,分别收集以上3组的细胞,加入蛋白裂解混合液4 $^{\circ}$ C震荡孵育30 min后, 1200 r/min离心10 min,吸取上清液,按照BCA法蛋白浓度检测试剂盒操作步骤进行蛋白定量后,加入等体积的上样缓冲液煮沸5 min, -80 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2.7 蛋白的Western blot检测:以每孔20 μ g的蛋白总量将样品在10%SDS-PAGE上分离后湿转到PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭1 h后,分别与 β -actin及FOXQ1一抗于4 $^{\circ}$ C摇床孵育过夜,之后分别以辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠IgG-HRP及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG-HRP为二抗,室温摇床孵育1 h,经洗液洗脱30 min后,表面滴加SuperSignal West Pico HRP化学发光底物,于Chemidoc XRS化学发光成像系统中曝光显影。

2 结果

2.1 FOXQ1基因(F/R组及F₂/R组)PCR扩增产物的电泳检测 含有FOXQ1基因全长cDNA序列的质粒经PCR扩增, 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测见一特异性条带,相对分子大小为1200 bp(图1),与预期相符,FOXQ1基因cDNA片段得到特异性扩增。

2.2 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1

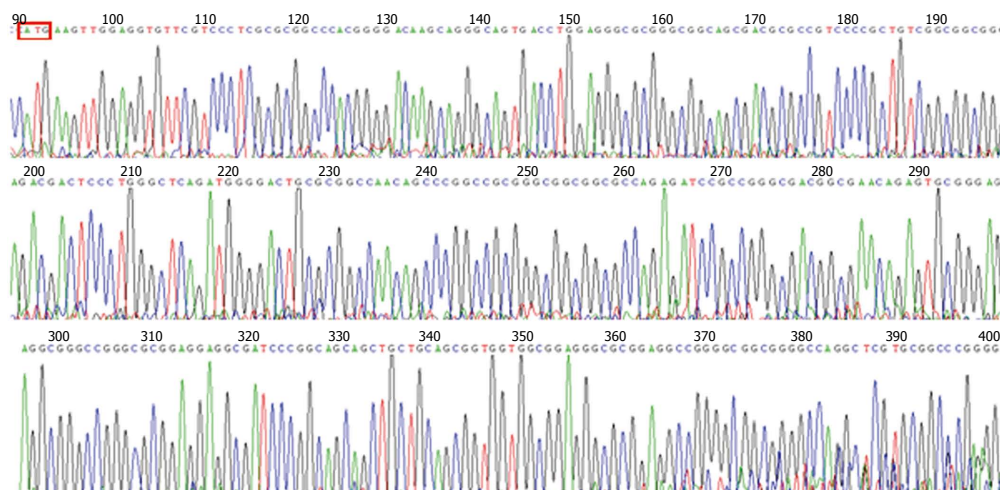


图3 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1测序结果. 红色框显示FOXQ1基因的起始密码子.

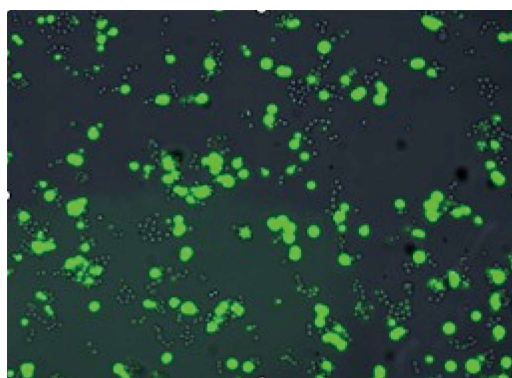


图4 重组质粒转染Colo-320细胞6 h后荧光显微镜下检测GFP的表达水平.

的PCR鉴定及双酶切鉴定 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1经PCR扩增可见一单一条带, 大小约为1200 bp; 经*Sac* I 和*Kpn* I 双酶切可得到大约为2900和1200 bp的两条带, 均与预期相符(图2).

2.3 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1测序鉴定结果 测序所用引物为pMV-F和PR, 均为pAcGFP1-N1质粒通用引物, 运用Seqman软件将测序结果与FOXQ1基因标准序列(NM_033260)进行比对, 结果显示构建的真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1所携带的FOXQ1基因序列与标准序列完全相符. 部分测序图谱(图3).

2.4 重组质粒转染Colo-320细胞后荧光显微镜下观察GFP的表达情况 修改重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1经Lipofectamine 2000转染Colo-320细胞24 h后在荧光显微镜下观察报告基因GFP的表达情况, Colo-320细胞经重组质粒转染后, 细胞内报告基因绿色荧光蛋白的表达清晰且强度高, 转染效率约为40%-50%(图4).

■创新盘点

本文首次成功构建了FOXQ1真核表达载体, Western blot证实FOXQ1蛋白在大肠癌细胞系中的成功表达.

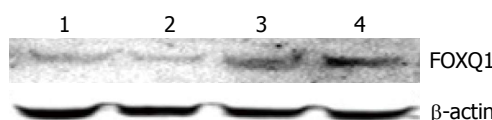


图5 重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1转染Colo-320细胞后Western blot检测结果. 1: 未经任何处理的Colo-320细胞; 2: pAcGFP1-N1的对照组细胞; 3: F₂/R重组真核表达质粒; 4: F/R重组真核表达质粒.

2.5 重组质粒转染Colo-320细胞后FOXQ1蛋白的Western blot检测结果 运用Western blot检测经重组真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1转染的Colo-320细胞中FOXQ1蛋白的表达情况, 可见β-actin组各蛋白条带深浅一致, 无明显差异, FOXQ1组均有不同深浅度的免疫杂交条带出现, 与Colo-320细胞空白对照组比较, pAcGFP1-N1空载体对照组FOXQ1蛋白表达未发生明显变化, F₂/R及F/R重组真核表达质粒组FOXQ1蛋白表达均增强, 并且F/R组的FOXQ1蛋白表达增强较F₂/R组更明显(图5).

3 讨论

人FOXQ1基因属于FOXQ基因亚家族, 定位于人体6号染色体短臂25.3区(6p25.3), 全长2319 bp, 仅含1个外显子, 编码403个氨基酸^[4].

研究表明FOXQ1基因参与调控毛发的分化^[5]; 在体外实验中可观察到FOXQ1基因的等位突变可以导致NK细胞功能缺失、CD4⁺ T细胞增殖能力降低, 并且可抑制平滑肌分化^[6]; FOXQ1基因在黑素瘤中, 作为前凋亡因子, 表达下调64倍, 并随着肿瘤的发生、发展其表达逐渐下调^[7]; 应用免疫组织化学技术对宫颈癌和癌旁组织中FOXQ1基因表达的研究则表明FOXQ1

■应用要点

本文成功构建了FOXQ1真核表达载体,并成功转染大肠癌细胞系,为后续研究FOXQ1基因在大肠癌发生发展中的功能、分子机制等的研究奠定了坚实的实验基础。

基因在宫颈癌旁组织中表达升高,而在宫颈癌组织中表达显著降低,虽然其表达降低与宫颈癌肿瘤分期、分级无关,但仍提示FOXQ1基因与宫颈癌的发生有一定相关性^[8]; Kaneda等^[9]研究发现FOXQ1基因在结直肠癌组织中高表达, *p21*是其重要的靶基因,并且推测FOXQ1基因主要参与正向调控血管内皮生长因子-A的表达,参与了消化系肿瘤中抗细胞凋亡和肿瘤血管生长通路的调节,从而进一步促进了消化系肿瘤的发生及发展; Zhang等^[10]应用基因芯片分别对人和小鼠具有不同侵袭能力的乳腺癌细胞系基因表达谱进行比较后发现FOXQ1基因的表达在高侵袭力的细胞系中远高于低侵袭力的细胞系,体内研究亦表明FOXQ1基因表达的异常增高能促进肿瘤细胞的转移和侵袭;最近的研究证实FOXQ1基因的表达升高能促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。EMT是公认的肿瘤细胞侵袭和转移的重要过程,EMT中最具代表性的变化就是E-钙粘蛋白(E-cadherin)的减少,造成细胞间附着能力的下降,同时亦造成E-钙粘蛋白复合物(E-cadherin adhesion complex)的降解,使得 β -catenin进入细胞核的几率上升,引发下游基因表达,促进细胞的增生与移动^[11],而FOXQ1基因促进肿瘤侵袭的分子机制正是通过其能特异性地结合到E-cadherin的启动子区从而抑制其表达^[12]。

FOXQ1基因是FOX基因家族成员之一,是一个维持细胞生命活动的关键性调控因子^[13],可以通过识别并结合下游靶基因的启动子区,实现对下游靶基因表达的正向或负向调节^[14]。我们的前期研究表明,FOXQ mRNA和蛋白质的表达水平随着大肠腺瘤→大肠腺癌这一病理过程逐步升高^[15,16],并提示FOXQ1基因在大肠腺瘤癌变过程中,在包括表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)信号通路在内的众多信号通路中发挥一定作用^[17,18]。

本研究采用的质粒pAcGFP1-N1为真核表达载体,可确保插入目的基因与pAcGFP1共同转录,为提供下一步细胞转染奠定基础。目前人特定cDNA片段可通过购买商品化的cDNA克隆或RT-PCR两种方法获得,考虑到RT-PCR扩增的保真性受模板、引物、循环次数以及DNA聚合酶等多种因素的影响^[19],因此我们选择了商品化的人FOXQ1基因cDNA克隆,以此为PCR模板扩增出了人FOXQ1基因的cDNA片段,并进一步构建了真核表达载体pAcGFP1-N1-FOXQ1,经测序

证实无误,此方法简化了实验步骤,提高了实验的准确性及真核表达载体构建的效率和成功率。

本实验中构建的pAcGFP1-N1-FOXQ1真核表达载体一个重要特点是含有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)。GFP来源于海洋生物水母,是近年来在分子生物学中应用最广泛的标记性蛋白质之一。GFP的cDNA约为740 bp,编码238个氨基酸残基,在合适波长的激光下,GFP肽链内部第65-67位的丝氨酸-酪氨酸-甘氨酸通过自身环化和氧化形成一个发色基团,可以发射易于观察的绿色荧光^[20,21]。本实验成功构建了pAcGFP1-N1-FOXQ1真核表达载体,经Lipofectamine 2000转染大肠癌细胞系Colo-320后,通过荧光显微镜监测GFP的表达、通过Western blot检测证实了目的基因FOXQ1在大肠癌Colo-320细胞中的表达增高,并且在翻译起始点的5'上游加入Kozak序列有助于增强基因的表达水平。

本实验成功构建了表达FOXQ1基因的真核表达质粒pAcGFP1-N1-FOXQ1,为后续研究FOXQ1基因在肿瘤发生发展中的功能和分子机制、发现FOXQ1基因参与的信号通路和下游靶分子、寻找新的肿瘤治疗靶点奠定了坚实的实验基础。

4 参考文献

- 1 Kaestner KH, Knochel W, Martinez DE. Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors. *Genes Dev* 2000; 14: 142-146 [PMID: 10702024]
- 2 Kaufmann E, Knöchel W. Five years on the wings of fork head. *Mech Dev* 1996; 57: 3-20 [PMID: 8817449 DOI: 10.1016/0925-4773(96)00539-4]
- 3 Myatt SS, Lam EW. The emerging roles of forkhead box (Fox) proteins in cancer. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 847-859 [PMID: 17943136 DOI: 10.1038/nrc2223]
- 4 Katoh M, Katoh M. Human FOX gene family (Review). *Int J Oncol* 2004; 25: 1495-1500 [PMID: 15492844]
- 5 Hong HK, Noveroske JK, Headon DJ, Liu T, Sy MS, Justice MJ, Chakravarti A. The winged helix/forkhead transcription factor Foxq1 regulates differentiation of hair in satin mice. *Genesis* 2001; 29: 163-171 [PMID: 11309849 DOI: 10.1002/gene.1020]
- 6 Hoggatt AM, Kriegl AM, Smith AF, Herring BP. Hepatocyte nuclear factor-3 homologue 1 (HFH-1) represses transcription of smooth muscle-specific genes. *J Biol Chem* 2000; 275: 31162-31170 [PMID: 10896677 DOI: 10.1074/jbc.M005595200]
- 7 Jensen EH, Lewis JM, McLoughlin JM, Alvarado MD, Daud A, Messina J, Enkemann S, Yeatman TJ, Sondak VK, Riker AI. Down-regulation of proapoptotic genes is an early event in the progression of malignant melanoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 1416-1423 [PMID: 17195911 DOI: 10.1245/

- s10434-006-9226-2]
- 8 张甦, 邢建明, 钱琤, 邓再兴, 程红玲. 宫颈癌中FOXQ1与NF-KB p65的表达及临床病理意义. 第二军医大学学报 2009; 30: 300-305
- 9 Kaneda H, Arao T, Tanaka K, Tamura D, Aomatsu K, Kudo K, Sakai K, De Velasco MA, Matsumoto K, Fujita Y, Yamada Y, Tsurutani J, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. FOXQ1 is overexpressed in colorectal cancer and enhances tumorigenicity and tumor growth. *Cancer Res* 2010; 70: 2053-2063 [PMID: 20145154 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2161]
- 10 Zhang H, Meng F, Liu G, Zhang B, Zhu J, Wu F, Ethier SP, Miller F, Wu G. Forkhead transcription factor foxq1 promotes epithelial-mesenchymal transition and breast cancer metastasis. *Cancer Res* 2011; 71: 1292-1301 [PMID: 21285253 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2825]
- 11 Yu J, Ebert MP, Miehke S, Rost H, Lendeckel U, Leodolter A, Stolte M, Bayerdörffer E, Malfert-heiner P. alpha-catenin expression is decreased in human gastric cancers and in the gastric mucosa of first degree relatives. *Gut* 2000; 46: 639-644 [PMID: 10764706 DOI: 10.1136/gut.46.5.639]
- 12 Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med* 2005; 9: 777-794 [PMID: 16364190 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2005.tb00379.x]
- 13 Chen K, Rajewsky N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 93-103 [PMID: 17230196 DOI: 10.1038/nrg1990]
- 14 Hannehalli S, Kaestner KH. The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 233-240 [PMID: 19274050 DOI: 10.1038/nrg2523]
- 15 唐慧, 郭强, 李丽, 张进萍, 王金丽, 严新民. 叉头框蛋白Q1在结直肠癌和结直肠腺瘤中的异常表达和基因突变. 中华消化杂志 2011; 31: 106-111
- 16 Tang H, Guo Q, Zhang C, Zhu J, Yang H, Zou YL, Yan Y, Hong D, Sou T, Yan XM. Identification of an intermediate signature that marks the initial phases of the colorectal adenoma-carcinoma transition. *Int J Mol Med* 2010; 26: 631-641 [PMID: 20878084]
- 17 唐慧, 邹云莲, 寿涛, 郭强, 严新民. 应用基因芯片技术检测参与大肠腺瘤癌变的表皮生长因子受体信号通路. 昆明医学院学报 2010; 31: 25-29, 52
- 18 唐慧, 董虹, 寿涛, 何旭, 邹云莲, 李丽, 严新民, 郭强. 参与大肠腺瘤癌变过程的信号通路初探. 中华临床医师杂志(电子版) 2010; 4: 28-34
- 19 陈松建, 徐锡金, 霍霞, 张宝, 梁晓, 陈刚建. 真核表达载体pIRES-EGFP-PDGF-B的构建及在293T细胞中的表达. 实用医学杂志 2008; 24: 3813-3815
- 20 Yin HY, Zhou X, Wu HF, Li B, Zhang YF. Baculovirus vector-mediated transfer of NIS gene into colon tumor cells for radionuclide therapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5367-5374 [PMID: 21072902 DOI: 10.3748/wjg.v16.i42.5367]
- 21 Ou XL, Chen HJ, Sun WH, Hang C, Yang L, Guan YY, Yan F, Chen BA. Effects of angiopoietin-1 on attachment and metastasis of human gastric cancer cell line BGC-823. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5432-5441 [PMID: 19916173 DOI: 10.3748/wjg.15.5432]

■同行评价

本文实验设计具有一定得科学性, 可读性较好, 具有较好的实验研究参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色诊断早期食管癌

陈昱倩, 王光铭, 章红梅

■背景资料

目前, 食管癌的诊疗主要依赖内镜下活检行组织病理学检查, 但早期食管癌在内镜下常缺乏特异性表现, 使得活检有一定的盲目性。使用色素内镜染色法可显示食管黏膜微小病变的形态特征, 有利于及时发现病灶, 为钳取黏膜标本提供准确目标。

陈昱倩, 王光铭, 章红梅, 南京市中西医结合医院消化内科
江苏省南京市 210014

陈昱倩, 主要从事内镜下消化系统早癌防治的研究。

作者贡献分布: 此论文由陈昱倩设计, 同时参与临床操作治疗、文章撰写以及文章审核; 病例收集、数据分析由王光铭与章红梅完成。

通讯作者: 陈昱倩, 讲师, 210014, 江苏省南京市玄武区孝陵卫179号, 南京市中西医结合医院消化内科。79405742@qq.com
电话: 025-84446038-8322

收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-05-24

接受日期: 2013-06-15 在线出版日期: 2013-07-18

Endoscopic acetic acid-Lugol's iodine double staining for diagnosis of early esophageal cancer

Yu-Qian Chen, Guang-Ming Wang, Hong-Mei Zhang

Yu-Qian Chen, Guang-Ming Wang, Hong-Mei Zhang,
Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yu-Qian Chen, Lecturer, Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated traditional Chinese and Western Medicine, 179 Xiaolingwei, Xuanwu District, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China. 79405742@qq.com

Received: 2013-04-15 Revised: 2013-05-24

Accepted: 2013-06-15 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To evaluate the value of endoscopic acetic acid-Lugol's iodine double staining in the diagnosis of early esophagus cancer.

METHODS: Patients with suspicious lesions first underwent Lugol's iodine staining, and the patients who showed no staining or poor staining were randomly divided into two groups: an acetic acid-Lugol's iodine double staining group ($n = 30$) and a Lugol's iodine staining group ($n = 30$). The double staining group underwent spraying with acetic acid first and then with Lugol's iodine solution. The mucosa was considered abnormal when mucosal discoloration or poor coloration developed after double staining, and biopsy of abnormal mucosa for histopathological examination was performed.

RESULTS: Eight (26.67%) patients of the double staining group were diagnosed with esophageal cancer by biopsy histopathological examination, containing 6 cases of esophageal squamous cell carcinoma and 2 cases of adenocarcinoma. Postoperative pathological diagnosis confirmed that all the 8 cases were early esophageal cancer. In the control group, 2 (6.67%) cases were found with esophageal squamous cell carcinoma by biopsy histopathological examination, and postoperative pathological diagnosis confirmed that both were early esophageal cancer. The detection rate of esophageal cancer in the double staining group was significantly higher than that in the Lugol's iodine staining group ($P < 0.05$). The detection rate of esophageal squamous cell carcinoma showed no significant difference between the two groups (20.00% vs 6.67%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Endoscopic acetic acid-Lugol's iodine double staining can improve the detection rate of early esophageal cancer, especially adenocarcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acetic acid; Lugol's iodine; Early esophagus cancer

Chen YQ, Wang GM, Zhang HM. Endoscopic acetic acid-Lugol's iodine double staining for diagnosis of early esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1972-1976 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1972.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1972>

摘要

目的: 探讨内镜下醋酸联合卢戈氏碘双重染色对诊断早期食管癌的临床意义。

方法: 选择内镜检查中发现食管可疑病灶的患者先行卢戈氏碘染色, 选择不着色或浅着色的随机分为两组: 醋酸联合卢戈氏碘双重染色组(A组)及卢戈氏碘单一染色组(B组)。双重染色组采取先喷洒醋酸, 然后再喷洒卢戈氏碘

■同行评议者

李增山, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学病理教研室

液.两者重叠后出现黏膜褪色及着色不良为染色异常黏膜.在染色异常区活检,行组织病理学检查.

结果: A组30例中有8例病理提示为食管癌,其中腺癌2例,鳞癌6例,术后病理结果显示均为早期食管癌,癌检出率26.67%. B组30例中食管鳞癌2例,检出率为6.67%,术后病理显示为早期食管癌.双重染色组食管癌检出率明显高于对照组,有显著性差异($P<0.05$). A组30例中有6例病理显示为食管鳞癌,检出率为20.00%, B组30例中食管鳞癌2例,检出率6.67%,两者比较无明显差异($P>0.05$).

结论: 初步证实内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色可提高早期食管癌的检出率,其中两组鳞癌的检出率比较没有明显差别,但双重染色组检出2例腺癌,由此推测双重染色可能可以提高腺癌的检出率.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 醋酸; 卢戈氏碘; 早期食管癌

核心提示: 本研究可以初步证实内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色可提高早期食管癌的检出率,其中两组食管鳞癌的检出率比较没有明显差别,但双重染色组检出2例食管腺癌,由此推测双重染色可能可以提高食管腺癌的检出率.

陈昱倩, 王光铭, 章红梅. 内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色诊断早期食管癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1972-1976
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1972.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1972>

0 引言

食管癌是我国常见的消化系肿瘤,在全国恶性肿瘤死亡总数中占22.34%,仅次于胃癌,居第2位^[1].由于我国人口众多,快速有效的筛查早期食管癌对降低死亡率有重要意义,与食管癌患者的治疗和预后密切相关^[2].食管正常黏膜组织上皮遇碘呈深棕色,而食管癌前病变及早期癌组织则不染色或呈浅染色.采用胃镜下卢戈氏碘染色可显著提高食管癌的早期检出率^[3-5].我院对2010-11/2012-04胃镜下发现的早期食管黏膜病变的患者采用醋酸联合卢戈氏碘双重染色法,与卢戈氏碘单一染色检查比较,提高了食管癌的检出率,现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择胃镜检查中发现食管可疑病灶(包括黏膜充血、粗糙、隆起、糜烂等)的患者78例,行卢戈氏碘染色后,选择浅着色或不着色的患者60例随机分为A、B两组,于检查后1 wk内再次染色. A组30例予以醋酸联合卢戈氏碘双重染色,其中男21例,女9例,年龄60-73岁,平均65.8岁 \pm 2.5岁; B组30例予以卢戈氏碘单一染色,其中男18例,女12例,年龄61-75岁,平均67.0岁 \pm 2.2岁. 两组一般情况无显著性差异($P>0.05$). 1.5%的卢戈氏碘液, 1.5%的醋酸, Olympus 5L喷洒管,富士能2200 EG-250WR电子胃镜.

1.2 方法

1.2.1 卢戈氏碘单一染色: (1)用生理盐水于内镜下可疑病灶上局部冲洗以清除黏液; (2)内镜抵齿状线上方,经活检孔道插入雾状喷洒管,直视下边退镜边喷洒1.5%卢戈氏碘液20 mL至距门齿20 cm处,将碘溶液均匀喷至食管黏膜表面,吸尽管腔内残留液体,然后观察病灶区域的黏膜着色情况.

1.2.2 醋酸联合卢戈氏碘双重染色组染色步骤: (1)将20 mL 1.5%的醋酸如上述方法均匀喷洒于食管黏膜表面,可见黏膜白化; (2)20 s后将20 mL 1.5%卢戈氏碘液喷洒于黏膜表面,观察黏膜变化.正常食管黏膜着色均匀,出现黏膜褪色及着色不良为染色异常黏膜.在染色异常区活检,行组织病理学检查.内镜与病理学检查均由同一名医师完成.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

A组经1.5%的醋酸染色后出现黏膜白化,可见部分黏膜转变为红色或不着色,再以1.5%卢戈氏碘染色后可见黏膜浅染或不着色,两种染色方法染色异常区域部分重叠,在重叠区域内活检,30例中有8例病理提示为食管癌,其中腺癌2例(图1),鳞癌6例(图2),术后病理结果显示均为早期食管癌,癌检出率26.67%. B组经1.5%卢戈氏碘染色后可见黏膜浅染或不着色,在该区域内活检. 30例中食管鳞癌2例(图3),癌检出率为6.67%,术后病理显示为早期食管癌. A组食管癌检出率明显高于B组,有显著性差异($P<0.05$)(表1).其中, A组30例中有6例病理显示

■研发前沿

我国是食管癌死亡率最高的国家,早期诊断与食管癌患者的治疗和预后密切相关,但常规胃镜检查很难发现早期食管癌.内镜下染色诊断早期食管癌在日本已取得较成熟的经验,在我国也逐渐开始普及.

■相关报道

沙杰等对110例胃黏膜异常者进行醋酸联合靛胭脂染色,结果显示,染色组110例中20例出现黏膜褪色,在黏膜褪色区活检组织病理证实早期胃癌13例,检出率达65%.由此得出,黏膜褪色对早期胃癌的诊断有一定的指示意义,内镜下醋酸联合靛胭脂染色有助于早期胃癌的发现和检出,提高活检的准确性.

■创新盘点

本研究应用醋酸联合卢戈氏碘双重染色后,病变黏膜多表现为黏膜浅染或不着色,与周围染色正常黏膜形成鲜明对比,提供了靶向活检目标。结果显示,双重染色组早期食管癌检出率明显高于对照组,但双重染色组与单一染色组鳞癌的检出率比较没有明显差别。

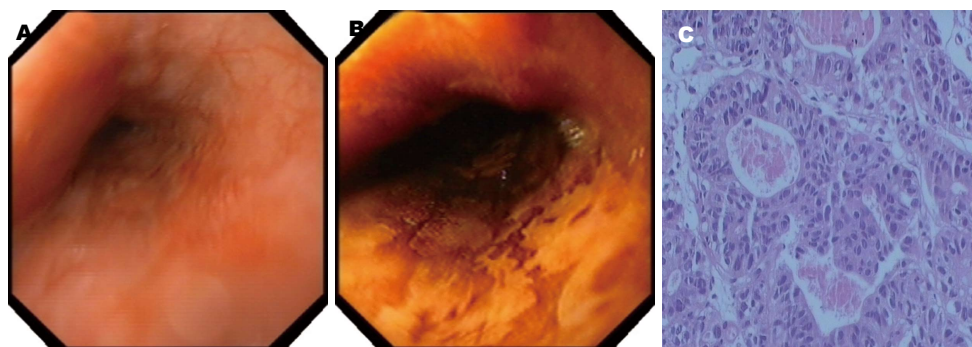


图1 食管早期腺癌(HE × 200). A: 普通胃镜下黏膜可见片状充血; B: 双重染色后黏膜可见大面积浅染及不着色区域; C: 病理提示低分化腺癌。

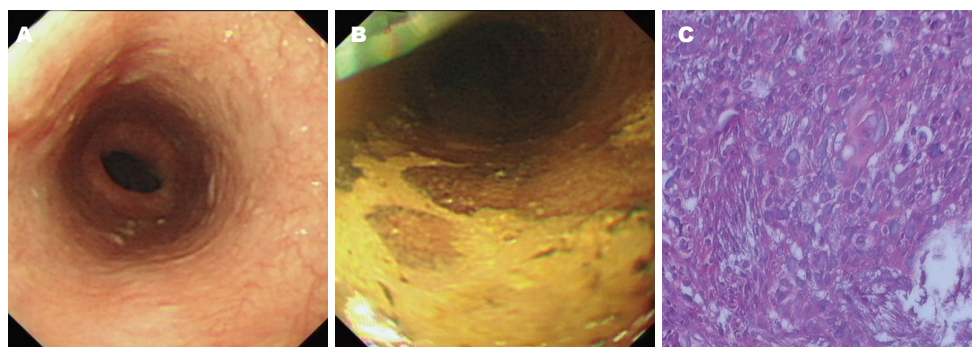


图2 食管早期鳞癌(HE × 400). A: 普通胃镜下黏膜稍粗糙; B: 双重染色后黏膜可见大面积浅染及不着色区域; C: 病理提示低分化鳞癌。

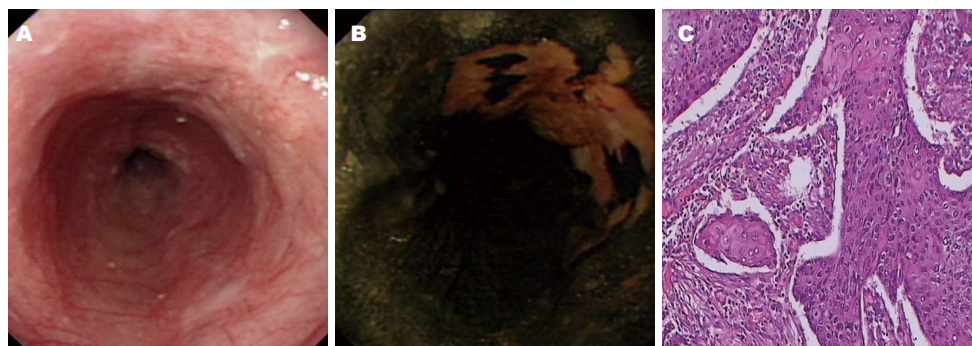


图3 食管早期鳞癌(HE × 100). A: 普通胃镜下黏膜稍粗糙; B: 单一染色后黏膜可见大面积不着色区域; C: 病理提示中分化鳞癌。

为食管鳞癌,检出率为20.00%,B组30例中食管鳞癌2例,检出率6.67%,两者间比较无明显差异($P>0.05$)(表2)。

3 讨论

胃镜下活检行组织病理学检查是目前诊断食管癌的主要方法,但早期食管癌及癌前病变内镜下常缺乏特异性表现,使得活检目标较盲目^[6]。目前放大内镜、色素内镜、共聚焦内镜及窄带成像术等检查技术正逐渐投入临床使用,食管癌及癌前病变的检出率得到了明显的提高,但

这些检查对技术设备要求很高,普通医院难以实施,同时由于检查费用的高昂,也使相关技术难以普及。相较之下,色素内镜检查显得更为经济实用。在早期消化系癌的色素内镜检查中,常用的染色试剂有醋酸、卢戈氏碘、靛胭脂、美兰等。

内镜检查时喷洒醋酸,最先是由Guelrud等^[7]用于Barrett食管内镜下治疗后残留柱状上皮的检测,后Yagi等^[8]和Tanaka等^[9]联合放大内镜应用于胃癌及癌前病变的检测。上皮细胞蛋白质接触醋酸后其三级结构会发生可逆性改变,从

表 1 两组食管癌检出率差异性比较 ($n = 30$)

分组	癌变例数(n)	检出率(%)	χ^2 值	P 值
A组	8	26.67	4.32	0.038
B组	2	6.67		

A组: 醋酸联合卢戈氏碘双重染色组; B组: 卢戈氏碘单一染色组。

表 2 两组食管鳞癌检出率差异性比较 ($n = 30$)

分组	鳞癌例数(n)	检出率(%)	χ^2 值	P 值
A组	6	20.00	2.31	0.129
B组	2	6.67		

A组: 醋酸联合卢戈氏碘双重染色组; B组: 卢戈氏碘单一染色组。

而导致黏膜表面产生一过性白化现象, 进而突显出病变组织和正常组织间的对比。李益农^[10]发现用醋酸喷洒于食管黏膜, 2-3 min后食管柱状上皮转变为红色, 而鳞状上皮黏膜不变色, 进而发现食管早期病变。

内镜下卢戈氏碘染色是诊断早期食管癌有效的染色方法^[11-13]。卢戈氏碘染色的主要原理是上皮细胞表面糖原与碘结合后发生的呈色反应。人体正常食管黏膜的鳞状上皮含有丰富的糖原颗粒, 当食管黏膜发生病变时, 由于鳞状上皮增生或糖原消耗增加, 其细胞表面的糖原含量减少或消失, 使染色后的食管呈现浅着色或不着色区域^[14], 使得食管黏膜病变范围边界更加清晰, 有助于判断黏膜病变部位及范围, 利于定位与活检, 提高诊断率^[15]。

根据两种染色剂对食管黏膜作用的不同原理及特性, 本文将两种试剂序贯对黏膜进行染色并在浅着色或不着色区进行活检, 与单一的卢戈氏碘染色后活检进行比较。结果显示: 醋酸联合卢戈氏碘双重染色组(A组)30例中有8例病理提示为食管癌, 其中腺癌2例, 鳞癌6例, 术后病理结果显示均为早期食管癌, 癌检出率26.67%; 卢戈氏碘单一染色组(B组)30例中食管鳞癌2例, 检出率为6.67%, 术后病理显示为早期食管癌。双重染色组食管癌检出率明显高于单一染色组, 有显著性差异($P < 0.05$)。但A组30例中有6例病理显示为食管鳞癌, 检出率为20.00%, B组30例中食管鳞癌2例, 检出率6.67%, 两者间比较无明显差异($P > 0.05$)。

总之, 通过本研究可以初步证实内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色可提高早期食管癌的检出率, 其中两组食管鳞癌的检出率比较没有明显差别, 但双重染色组检出2例食管腺癌, 由此推测双重染色可能可以提高食管腺癌的检出率。但本次研究仅为一次食管黏膜双重染色的初步尝试, 其结果的正确性及其机制尚需今后进一步研究。

4 参考文献

- 高峰. 食管癌研究现状综述. 蚌埠医学院学报 2010; 35: 645-648
- Wang GQ, Jiao GG, Chang FB, Fang WH, Song JX, Lu N, Lin DM, Xie YQ, Yang L. Long-term results of operation for 420 patients with early squamous cell esophageal carcinoma discovered by screening. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 1740-1744 [PMID: 15111177 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2003.10.098]
- Sugimachi K, Kitamura K, Baba K, Ikebe M, Kuwano H. Endoscopic diagnosis of early carcinoma of the esophagus using Lugol's solution. *Gastrointest Endosc* 1992; 38: 657-661 [PMID: 1282113 DOI: 10.1016/S0016-5107(92)70560-4]
- Shiozaki H, Tahara H, Kobayashi K, Yano H, Tamura S, Imamoto H, Yano T, Oku K, Miyata M, Nishiyama K. Endoscopic screening of early esophageal cancer with the Lugol dye method in patients with head and neck cancers. *Cancer* 1990; 66: 2068-2071 [PMID: 1699649 DOI: 10.1002/1097-0142(19901115)66]
- 吴正奇, 张志猛, 卢林芝, 赵光源, 刘金殿, 李世华, 李祥. 卢戈氏液染色对早期食管癌的诊断价值. 中国现代医学杂志 2010; 20: 3659-3661
- 沙杰, 李学良, 施瑞华, 林琳, 胡小丹, 丁静, 许迎红, 陈莉, 陶桂, 莫静, 张道权. 醋酸联合靛胭脂染色诊断早期胃癌及癌前病变的临床价值. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 644-646
- Guelrud M, Herrera I. Acetic acid improves identification of remnant islands of Barrett's epithelium after endoscopic therapy. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 512-515 [PMID: 9647377 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70253-6]
- Yagi K, Aruga Y, Nakamura A, Sekine A, Umezu H. The study of dynamic chemical magnifying endoscopy in gastric neoplasia. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 963-969 [PMID: 16301045]
- Tanaka K, Toyoda H, Kadowaki S, Kosaka R, Shiraishi T, Imoto I, Shiku H, Adachi Y. Features of early gastric cancer and gastric adenoma by enhanced-magnification endoscopy. *J Gastroenterol* 2006; 41: 332-338 [PMID: 16741612 DOI: 10.1007/s00535-005-1760-3]
- 李益农, 陆星华. 消化内镜学. 第2版. 北京: 科学出版社, 2004: 102-130
- Shimizu Y, Takagoshi H, Fujita M, Hosokawa M, Kato M, Asaka M. Endoscopic screening for early esophageal cancer by iodine staining in patients with other current or prior primary cancers. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 1-5 [PMID: 11154480 DOI: 10.1067/mge.2001.111387]
- 李超民, 刘佳萍, 何洪, 朱轶. 邵阳市食管癌207例临床及内镜分析. 中国内镜杂志 2004; 10: 70-71
- 党彤, 陈言东, 田旭阳, 栗鹏, 姚丽华. 内镜下卢戈氏液

■应用要点

本研究初步证实了内镜下醋酸联合卢戈氏碘染色可提高早期食管癌的检出率, 对于提高基层医院的肿瘤检出率, 改善预后及治疗效果具有重要意义, 在消化系疾病的诊疗过程中具有广泛的应用前景。

■同行评价

本文探讨了内镜下醋酸联合卢戈氏碘双重染色对诊断早期食管癌的临床意义,具有一定的临床实践价值。

- 14 染色诊断食管癌前病变和早期食管癌的价值. 中国自然医学杂志 2008; 10: 291-293
- 15 格日勒网. 内镜下碘染色诊断食管癌和上皮异型增生

的临床分析. 中国医师杂志 2007; 9: 961-962

- 马兴刚, 黄根东, 刘树青. 内镜下碘染色诊断的临床对照研究. 中国内镜杂志 2006; 12: 45

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

超声内镜与CT检查在食管胃结合部腺癌术前TN分期中的临床对比

汪泳, 张方信, 常宗宏, 刘鑫, 邓尚新, 赵海霞

汪泳, 张方信, 常宗宏, 刘鑫, 邓尚新, 赵海霞, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化科 甘肃省兰州市 730050
汪泳, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤侵袭与转移的相关研究。
作者贡献分布: 汪泳与张方信对此文所作贡献均等; 此课题由汪泳设计; 研究过程由汪泳、张方信、常宗宏、刘鑫、邓尚新及赵海霞操作完成; 研究数据分析由汪泳完成; 本论文写作由汪泳完成。

通讯作者: 张方信, 主任医师, 730050, 甘肃省兰州市七里河区滨河南路333号, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化科。
zhangfx2008@tom.com

电话: 0931-8994268

收稿日期: 2013-04-16 修回日期: 2013-05-21

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

EUS versus CT for preoperative TN staging of adenocarcinoma of the esophagogastric junction

Yong Wang, Fang-Xin Zhang, Zong-Hong Chang, Xin Liu, Shang-Xin Deng, Hai-Xia Zhao

Yong Wang, Fang-Xin Zhang, Zong-Hong Chang, Xin Liu, Shang-Xin Deng, Hai-Xia Zhao, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command of PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Correspondence to: Fang-Xin Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Command of PLA, 333 Binhe South Road, Qilihe District, Lanzhou 730050, Gansu Province, China. zhangfx2008@tom.com

Received: 2013-04-16 Revised: 2013-05-21

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To compare the accuracy of endoscopic ultrasonography (EUS) versus computed tomography (CT) in TN staging of the adenocarcinoma of the esophagogastric Junction (AEG).

METHODS: Ninety-one patients with pathologically proven AEG who received preoperative EUS and helical CT and surgical resection from February 2007 to December 2012 and had complete clinical data were included in this study. The accuracy of EUS versus CT in TN staging of AEG was compared.

RESULTS: The overall accuracy rates of pre-

operative T staging and N staging by EUS were 81.3% and 86.8%, respectively, significantly higher than those by helical CT (58.2% and 58.3%, respectively).

CONCLUSION: Compared with helical CT, EUS is associated with a higher accuracy in preoperative TN staging of AEG.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Adenocarcinoma of esophagogastric junction; Endoscopic ultrasonography; Helical CT; TN staging

Wang Y, Zhang FX, Chang ZH, Liu X, Deng SX, Zhao HX. EUS versus CT for preoperative TN staging of adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1977-1981 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1977.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1977>

摘要

目的: 通过分析超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)、螺旋计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查对食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)术前TN分期的准确性比较, 评价其临床应用价值。

方法: 2007-02/2012-12接受外科手术切除的91例经病理证实且临床资料完整的AEG患者纳入研究, 所有研究对象均于术前行EUS及螺旋CT检查, 结合术后病理分期进行对比分析。

结果: EUS对食管胃结合部腺癌术前T分期总准确率为81.3%, N分期准确率为86.8%; 螺旋CT的TN分期准确率分别为58.2%、58.3%; 前者明显高于后者, 二者之间的差异具有统计学意义。

结论: EUS较CT更能准确地判断食管胃结合部腺癌的TN分期, 有助于指导制订合理的手术方案。

© 2013年版权归Baishideng所有。

■背景资料

1987年, 德国学者Siewert等首次提出了食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)这一概念, 将位于食管胃连接线(齿状线)上下5 cm范围内的腺癌统称为AEG, 并根据癌肿的主体部位与齿状线的关系将AEG分为Siewert I、II、III型。近年来, AEG的发病率持续上升, 受到越来越多的关注。已有的文献表明AEG在流行病学、病因学、影像学、病理学临床治疗以及预后等诸多方面具备独立特征和独特的生物学行为, 倾向于作为一类独立疾病进行研究。

■同行评议者

李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室; 杨薇, 副教授, 副主任医师, 北京大学肿瘤医院超声科

■研究前沿

近年来, AEG发病率呈上升趋势, 手术仍为该病的主要治疗手段, 但目前国人对该病概念较模糊, 导致手术选择(包括手术入路、切除范围、淋巴结清扫范围等方面)多样, 甚至存有争议. 对肿瘤进行充分的分型、分期评估, 遵循个体化治疗原则, 是为患者选择科学合理的术式的前提和基础. AEG常用的术前评估检查方法包括CT、MRI、PET-CT、胃镜、超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)和腹腔镜探查等. 何种检查方式可早期发现AEG并准确进行TNM分期评估是目前研究的热点和难点.

关键词: 食管胃结合部腺癌; 超声内镜; 螺旋CT; TNM分期

核心提示: 食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)作为一类不同于食管癌和胃癌的独立疾病, 5年生存率低, TNM分期为影响术后存活率的独立影响因素. 本文通过超声内镜(endoscopic ultrasonography)、螺旋计算机断层扫描(computed tomography)检查对AEG术前TN分期的准确性分析, 有助评价预后及治疗方式. 该研究具有一定的临床应用价值.

汪泳, 张方信, 常宗宏, 刘鑫, 邓尚新, 赵海霞. 超声内镜与CT检查在食管胃结合部腺癌术前TN分期中的临床对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1977-1981 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1977.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1977>

0 引言

食管胃结合部腺癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)作为一类不同于食管癌和胃癌的独立疾病的观点近年来已逐渐为多数学者所接受. 尤其是近年来, AEG的发病率在西方国家出现持续上升趋势^[1,2], 5年生存率低, 更成为欧美医学界研究的热点领域, 国内学者近两年也开始重视AEG的研究. AEG的R0切除是相对于TNM分期影响术后存活率的独立影响因素^[3], 所以术前分期的准确性对于治疗方法的选择至关重要. 研究表明超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)能清晰显示消化道管壁解剖层次、肿瘤周边淋巴结的转移及与邻近脏器的关系, 是一种较好的消化系肿瘤术前分期方法. 螺旋计算机断层扫描(computed tomography, CT)扫描是目前公认的肿瘤术前临床分期指标之一. 本研究以术后组织病理作为金标准, 通过EUS与螺旋CT对AEG分期的准确性对比研究, 旨在评估EUS在AEG诊断和术前分期方面的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选择兰州军区兰州总医院2007-02/2012-12接受外科手术切除的下段食管腺癌、贲门腺癌、胃底或胃体上部腺癌共469例, 其中将91例经组织病理证实且临床资料完整并符合AEG诊断的患者纳入本次研究. 其中男63例, 女28例; 年龄43-71岁, 中位年龄59.6岁. 91例中, 早期AEG 4例, 进展期87例. 入选病例术前均未行放、化疗. Olympus GIF-260胃镜、Olympus GF-UM2000超声内镜, 超声频率为5-20 MHz.

TOSHIBA aquilion 16排螺旋CT.

1.2 方法

1.2.1 EUS检查: 所有入选病例均先期已行胃镜加活检明确为AEG, 而后行EUS检查. 检查前准备同常规胃镜. 采用水囊法或水囊法加脱气水充盈法. 检查时用退镜法观察, 依次为胃窦、胃体、胃底、贲门、食管; 先观察消化道管壁情况, 再更超声换频率观察管壁外淋巴结及相邻脏器.

1.2.2 螺旋CT检查: 所有患者检查前饮水500 mL, 取仰卧位, 自气管隆突水平扫至腹主动脉分叉水平, 层厚5 mm, 间隔5 mm.

1.2.3 评定标准: (1)AEG诊断标准^[4,5]: 跨越食管胃结合部(esophagogastric junction, EGJ)上下5 cm范围的腺癌, 不论其主体位于EGJ上方或下方, 均诊断为AEG. AEG按Siewert分3型^[6], I型: 远端食管癌, 肿瘤中心位于EGJ上1-5 cm; II型: 贲门癌, 肿瘤中心位于EGJ上1 cm至下2 cm范围, 侵犯EGJ; III型: 贲门下癌, 肿瘤中心位于EGJ下2-5 cm, 侵犯EGJ; (2)EUS诊断标准: EUS能清晰显示消化管管壁的5层结构并与组织学相对应, 即第1层高回声和第2层低回声为黏膜层, 第3层为高回声即黏膜下层, 第4层低回声为肌层, 第5层高回声为浆膜层或外膜. 癌肿侵犯深度的诊断标准^[7]: T1期: 分为黏膜癌(第1、2层增厚呈不均质的中、低回声图像, 第3-5层结构完整)、黏膜下癌(第1-3层结构不清、增厚, 呈低回声改变, 第4-5层结构完整); T2期: 表现为第1-4层结构层次消失、增厚, 呈低回声改变或局限性突入管腔, 第5层完整; T3期: 管壁5层结构均消失、增厚, 呈低回声改变; T4期: 表现为低回声团块突破第5层, 侵入外周相邻脏器的征象. 淋巴结转移的判断标准为直径>1 cm、边界清楚的低回声结节影, 呈单个或多个融合状. 未转移淋巴结则为高回声, 边界模糊影; (3)CT诊断标准^[8]: AEG在CT图像上表现为以贲门为中心的突向胃腔内的溃疡性肿块或增厚影; 由于该部位解剖学上的特殊性, AEG在食管胃结合部的横断面图像上, 溃疡常表现为尖端指向食管下端, 口部开向胃腔的较深的三角形或弓形凹陷, 凹陷的两侧壁及尖端形成癌性溃疡的底, 溃疡底不光滑. 溃疡两侧增厚的胃壁, 在与正常胃壁交界处向胃腔内隆起形成环堤, 有的似鸟嘴样结构; (4)病理TN分期标准: AEG的TNM分期标准参照2009年底AJCC/UICC第7版国际肿瘤TNM分期进行分类^[9]即肿瘤主体位于食管侧的癌按食管癌的TNM分期标准进行分类. 肿瘤主体位于胃侧者

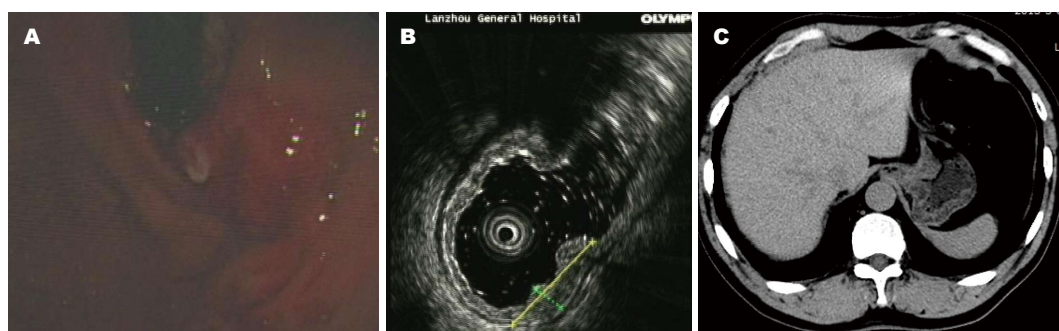


图1 食管胃结合部腺癌影像图。A: 胃镜示贲门不规则溃疡, 基底不光滑, 边缘环堤状隆起; B: 超声内镜示病灶处黏膜层黏膜肌层结构不清呈低回声改变, 黏膜下层、固有肌层、浆膜层完整; C: CT图像上表现为以贲门为中心的突向胃腔内的溃疡性肿块或增厚影。

■创新盘点

AEG作为一类不同于食管癌和胃癌的独立疾病, 5年生存率低, TNM分期为影响术后存活率的独立影响因素。本文通过EUS、螺旋CT检查对AEG术前TN分期的准确性分析, 有助评价预后及治疗方式, 该研究具有一定临床应用价值。

表1 67例食管胃结合部腺癌患者基本情况及肿瘤病理特征

Siewert 分型	n	年龄 (岁)	性别 (男:女,n)	Borrmann分型[n(%)]					P值
				早期	I型	II型	III型	IV型	
I型	8	62.7	6:2	1(12.5)	1(12.5)	3(37.5)	3(37.5)	0	0.048
II型	37	60.0	26:11	3(8.1)	8(21.6)	3(8.1)	23(62.1)	0	
III型	46	58.7	31:15	0	4(8.7)	13(28.3)	29(63.0)	0	
合计	91	59.6	63:28	4(4.2)	13(14.3)	19(20.9)	55(60.4)	0	

按照胃肿瘤的TNM分期标准进行分类。肿瘤大体类型按照Borrmann分型标准进行划分。

统计学处理 本研究采用SPSS10.0统计软件。两组计量资料比较用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 诊断一致性采用 κ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 患者基本情况及临床病理特征 按照Siewert分型标准各型的年龄、性别见表1, 患者的年龄、性别比方面在两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。91例AEG患者中, Siewert I型8例(8.8%), II型37例(40.7%), III型46例(50.5%)。Siewert各型的肿瘤大体类型情况详见表1, 其中早癌4例(4.2%), Borrmann I型13例(14.3%), Borrmann II型19例(20.9%), Borrmann III型55例(60.4%), Borrmann IV型0例。

2.2 EUS、螺旋CT术前T分期与术后病理分期的比较 AEG在EUS中表现为胃壁层次结构破坏, 呈低回声改变(图1A, B), 而在CT图像中表现为胃壁的增厚影, 但对于T1、T2期较难分辨(图1C)。EUS对于T分期的敏感度、特异度及准确度均高于螺旋CT, 尤其准确度差异更加明显, 详细结果见表2, 经配对 χ^2 检验, 显示这一差异具有统计学意义($\chi^2 = 118.5$, $P = 0.000$)。进一步分析

计算联合CT和EUS两种方法对于T分期的敏感度、特异度及准确度, 结果分别为, T1期的敏感度、特异度及准确度分别为: 85.7%、19.0%、24.2%, T2期的敏感度、特异度及准确度分别为: 75.0%、17.7%、25.3%, T3期的敏感度、特异度及准确度分别为: 84.6%、21.2%、48.4%, T4期的敏感度、特异度及准确度分别为: 78.8%、17.2%、40.0%。分析EUS和CT两组之间结果的一致性, 使用一致性检验 $P = 0.000$, 由此说明两种方法检测结果的趋势相似, 但因 $\kappa = 0.59$ 、 < 0.75 , 提示其一致性中等。由此提示这两种方法之间具有相互参考的意义。

2.3 EUS、螺旋CT淋巴结转移判定与术后病理的比较 同样分析EUS与CT这两种方法对淋巴结转移的判断, 结果显示EUS的敏感度、特异度、准确度均高于CT检查, 详细结果见表3, 使用配对计数资料 χ^2 检验, $\chi^2 = 18.675$ 、 $P = 0.000$, 显示两组之间的差异存在统计学意义; 分析计算联合CT和EUS两种方法对于淋巴结转移的判断, 其敏感度、特异度及准确度分别为: 89.7%、60.9%、82.4%。进一步进行两组结果之间的一致性, 使用一致性检验, $\kappa = 0.414$ 、 $P = 0.000$, 说明2种方法检查的结果有一致性, 但因 $\kappa = 0.414$ 、 < 0.75 , 其一致性属于中等偏下, 提示两种方法具有相互参考的价值, 但意义较小。

■应用要点

EUS对AEG术前分期具有较高的临床应用价值。在临床应用过程中可进一步联合螺旋CT检查,起到互补的作用,能最大限度地提高肿瘤TNM分期的诊断水平,为患者获得最佳最合理的治疗方案提供较大帮助。

表 2 67例食管胃结合部腺癌患者术前EUS、螺旋CT分期结果

病理 T分期	n	EUS T分期							螺旋CT分期						
		T1	T2	T3	T4	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)	T1	T2	T3	T4	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)
T1	7	6	1	0	0	85.7	96.4	95.6	4	1	1	1	57.1	94.0	91.2
T2	12	1	9	2	0	75.0	93.7	91.2	2	7	3	0	58.3	82.3	79.1
T3	39	1	3	33	2	84.6	86.5	85.7	2	9	23	5	59.0	75.0	68.1
T4	33	1	1	5	26	78.8	96.6	90.1	1	4	9	19	57.6	89.7	78.0
合计	91	9	14	40	28			81.3	9	21	36	25			58.2

EUS: 超声内镜; CT: 计算机断层扫描。

表 3 67例食管胃结合部腺癌患者术前EUS、螺旋CT淋巴结转移结果

病理 N分期	n	EUS N分期					螺旋CT N分期				
		N0	N1	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)	N0	N1	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)
N0	23	18	5	78.3	89.7	86.8	14	9	60.9	57.4	58.3
N1	68	7	61	89.7	78.3		29	39	57.4	60.9	
合计	67	25	66				43	48			

EUS: 超声内镜; CT: 计算机断层扫描。

3 讨论

EGJ是指食管下端纵行栅栏状血管末梢或胃黏膜皱襞的近侧缘^[4]。而此连接线(齿状线)上下5 cm范围内的区域出现的腺癌称为AEG^[5]。目前对于AEG的属区划分国内外虽然存有争议,但由于其解剖处于胸腹交界处这一特殊部位,有着相对独立的临床病理特征,越来越多的文献资料显示其在流行病学、病因学、影像学、临床治疗及预后等方面具有独立的特征和独特的生物学行为,更倾向作为一种不同于食管癌和胃癌的特殊类型肿瘤进行研究^[10]。AEG的浸润、进展以及淋巴结转移的不同,导致手术选择如手术入路、切除范围、淋巴结清扫等方面在临床上出现较多分歧,且术后5年存活率仅34.0%-52.3%。因此,对AEG进行充分术前分期评估,并遵循个体化治疗原则,对提高患者生存率有着重要的临床意义。

食管癌、胃癌术前评估常用的检查方法包括CT、MRI、PET-CT、EUS等。而AEG的术前评估目前国内文献报道较少^[11]。EUS是将内镜与超声相结合,不但可以通过胃镜直接观察黏膜表面病变形态,同时又可通过超声扫描来判断病变侵犯的范围、深度及淋巴结转移的情况,为临床治疗方案的选择提供重要的依据。大量临床研究表明, EUS检查是目前胃癌术前分期的重要手段。而对于食管胃结合部这一特殊部

位, EUS通过水囊法或水囊法加脱气水充盈法对病灶处进行扫描,避免了脂肪的衰减及胃肠道气体和骨骼等的干扰,不断采用进镜或退镜方法实时获得管道壁层癌组织浸润深度及管壁外肿大淋巴结情况,尤其是对于交界部的T分期可以比较准确地鉴别黏膜内癌(T1a)和黏膜下癌(T1b)^[12],并以此指导内镜下黏膜切除术和内镜黏膜下剥离术。我们通过EUS对AEG进行术前评估与术后病理的比较发现, EUS对于AEG的TN分期准确性明显优于CT,对于T分期的总准确度为81.3%,这与文献报道相类似^[4]。而且我们在本次研究中还发现对于食管胃结合部肿瘤的纵行范围判断(即长度)EUS也明显优于CT,可直视下测量病灶长度及周径,为手术范围的确定做好预案。EUS对淋巴结转移的判断标准为直径>1 cm、边界清楚的低回声结节影,呈单个或多个融合状。未转移淋巴结则为高回声,边界模糊影。通过实时切换超声频率5-12 MHz, EUS可动态、连续观察到食管壁、胃壁外淋巴结转移情况,本研究结果同样也显示出对AEG术前N分期总准确率为86.8%,与文献报道接近^[12,13],但对于远处淋巴结转移及远处脏器转移EUS有其局限性。

由于螺旋CT扫描仍是目前公认的肿瘤术前临床分期指标之一,而且无创伤及痛苦,在患者耐受程度、扫描范围广泛等方面具有EUS无法比拟的优势。

但AEG为食管胃交界部的空腔脏器肿瘤, 邻近脏器较多、结构复杂且走行迂曲, 又穿过膈肌, 而且AEG淋巴引流也相对复杂, 转移途径包括上方、水平和下方3个方向, CT检查较难获得满意图像, 并且CT对肿瘤的T1、T2期较难分辨, 容易出现误诊、漏诊. 本研究结果同样显示这样的趋势, CT的T分期和淋巴结转移诊断的敏感性、特异性、准确度均较EUS差. 相信随着近年来螺旋CT设备的不断更新及影像学医师技术的不断提高, 同时结合冠矢状位成像的处理, 可使得CT在AEG中的检出率得到提高.

总之, 我们认为EUS对AEG术前分期具有较高的临床应用价值. 在临床诊断过程中, 我们还发现对于AEG患者EUS联合CT检查, 可起到互补的作用, 能最大限度地提高肿瘤TNM分期的诊断水平, 为患者获得最佳最合理的治疗方案提供较大帮助.

4 参考文献

- 1 Keeney S, Bauer TL. Epidemiology of adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *Surg Oncol Clin N Am* 2006; 15: 687-696 [PMID: 17030267 DOI: 10.1016/j.soc.2006.07.014]
- 2 Hasegawa S, Yoshikawa T. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: incidence, characteristics, and treatment strategies. *Gastric Cancer* 2010; 13: 63-73 [PMID: 20602191 DOI: 10.1007/s10120-010-0555-2]
- 3 Meyer W, Popp M, Klinger L, Awad-Allah A, Gebhardt C. Results of surgical therapy of adenocarcinomas of the esophagogastric junction according to a standardized surgical resection technique. *Dig Surg* 2002; 19: 269-274; discussion 275 [PMID: 12207069 DOI: 10.1159/000064579]
- 4 Siewert JR, Feith M. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: competition between Barrett and gastric cancer. *J Am Coll Surg* 2007; 205: S49-S53 [PMID: 17916519 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.06.324]
- 5 Siewert JR, Hölscher AH, Becker K, Gössner W. [Cardia cancer: attempt at a therapeutically relevant classification]. *Chirurg* 1987; 58: 25-32 [PMID: 3829805]
- 6 Siewert JR, Stein HJ. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. *Br J Surg* 1998; 85: 1457-1459 [PMID: 9823902 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00940.x]
- 7 金震东, 李兆申. 消化超声内镜学. 北京: 科学出版社, 2006: 269-275
- 8 张晓鹏. 胃肠道CT诊断学. 沈阳: 辽宁科学出版社, 2001: 71-77
- 9 Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009: 63-77
- 10 张祥宏. 食管胃交界腺癌——一个值得病理学家关注的问题. *中华病理学杂志* 2007; 36: 363-365
- 11 Blackshaw G, Lewis WG, Hopper AN, Morgan MA, Al-Khyatt W, Edwards P, Roberts SA. Prospective comparison of endosonography, computed tomography, and histopathological stage of junctional oesophagogastric cancer. *Clin Radiol* 2008; 63: 1092-1098 [PMID: 18774355 DOI: 10.1016/j.crad.2008.04.006]
- 12 Räsänen JV, Sihvo EI, Knuuti MJ, Minn HR, Luostarinen ME, Laippala P, Viljanen T, Salo JA. Prospective analysis of accuracy of positron emission tomography, computed tomography, and endoscopic ultrasonography in staging of adenocarcinoma of the esophagus and the esophagogastric junction. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 954-960 [PMID: 14527917 DOI: 10.1245/ASO.2003.12.002]
- 13 Wallace MB, Nietert PJ, Earle C, Krasna MJ, Hawes RH, Hoffman BJ, Reed CE. An analysis of multiple staging management strategies for carcinoma of the esophagus: computed tomography, endoscopic ultrasound, positron emission tomography, and thoracoscopy/laparoscopy. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 1026-1032 [PMID: 12400740 DOI: 10.1016/S0003-4975(02)03875-4]

■同行评价

本文结构及结论合理, 方法及结果可信, 具有一定临床应用价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎疗效的Meta分析

孔岩君, 李勇, 李文林, 刘皓, 魏睦新

■背景资料

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是一种以胃黏膜萎缩变薄、腺体减少或消失为特征的消化系统疾病, 为常见病和难治病之一, 属于中医学的“胃脘痛”、“痞满”等范畴, 1978年, 世界卫生组织将其列为胃癌的癌前疾病或癌前状态。因此, 阻断、逆转其癌变成为中西医结合研究的重点课题。

孔岩君, 李勇, 刘皓, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 江苏省南京市 210029

李勇, 南京医科大学第一附属医院心理科 江苏省南京市 210029

李文林, 南京中医药大学图书馆 江苏省南京市 210029

孔岩君, 主要从事消化系统疾病的临床研究。

江苏省中医药局课题基金资助项目, No. JD11040

作者贡献分布: 文献收集与Meta分析主要由孔岩君完成; 李文林与李勇参与文献检索; 刘皓参与文献信息的收集与整理; 论文的选题、指导及审校由魏睦新完成。

通讯作者: 魏睦新, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科, weimuxin@njmu.edu.cn

电话: 025-68136267 传真: 025-83724440

收稿日期: 2013-04-18 修回日期: 2013-05-17

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Combination of Chinese and Western medicine for treatment of chronic atrophic gastritis: A meta-analysis

Yan-Jun Kong, Yong Li, Wen-Lin Li, Hao Liu, Mu-Xin Wei

Yan-Jun Kong, Yong Li, Hao Liu, Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Yong Li, Department of Psychology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Wen-Lin Li, Library of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province, No. JD11040

Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn

Received: 2013-04-18 Revised: 2013-05-17

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To systematically assess the efficacy of combination of Chinese and Western medicine in the treatment of chronic atrophic gastritis (CAG).

METHODS: Randomized controlled trials (RCTs) that compared the efficacy of combination of Chinese and Western medicine versus Western medicine treatment alone in the treatment of CAG were retrieved from CNKI, Wanfang Data-

base, China Scientific Journal Database by VIP, PubMed, Web of Science, Embase, Clinical Trials.gov, OVID and Cochran Library. Outcomes of included RCTs were combined by using meta-analysis.

RESULTS: Ten studies involving 1039 CAG patients were included. A test for homogeneity of the studies included ($P = 0.99$; $I^2 = 0\%$) indicated that the data had homogeneity, and the fixed effect model was therefore used. The amount of pooled effects ($OR = 5.32$, 95%CI: 3.59-7.88, $Z = 8.34$; $P < 0.00001$) showed statistical difference in the improvement of clinical symptoms and pathological examination results between the combination group and Western medicine group.

CONCLUSION: Combination of TCM and Western medicine shows obvious advantages in the treatment of CAG compared with Western medicine alone.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; Combination of Chinese and Western medicine; Traditional Chinese medicine; Meta-analysis

Kong YJ, Li Y, Li WL, Liu H, Wei MX. Combination of Chinese and Western medicine for treatment of chronic atrophic gastritis: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1982-1986 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1982.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1982>

摘要

目的: 应用Meta分析法系统评价中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)的疗效。

方法: 系统检索中国知网、万方、维普和Pubmed、Web of science、Embase、Clinical Trials.gov、OVID和Cochran Library数据(截止2013-01)中比较中西医结合与单纯西医治疗CAG的随机对照研究(randomized clinical trial, RCT), 对纳入的RCT的研究结果进行合并。

■同行评议者

范恒, 主任医师, 教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科; 王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

结果: 共纳入10项研究, 1039例CAG患者, 对纳入文献进行异质性检验得 $P = 0.99$; $I^2 = 0\%$, 表明研究数据具有同质性, 当采用固定效应模型。此外, 合并效应OR = 5.32, 95%CI: 3.59-7.88); 合并效应量的检验 $Z = 8.34$; $P < 0.00001$, 显示中西医结合治疗与单纯西医治疗之间在临床表现和病理改善的总体有效率有统计学差异。

结论: 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎疗效优于单纯西医治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 慢性萎缩性胃炎; 中西医结合治疗; 中药; Meta分析

核心提示: Meta分析作为循证医学的科学工具发展至今已经比较成熟, 通过对大量文献的筛选、整合, 分析能够得出较单个小样本临床试验更可靠的临床证据。本文正是通过这一科学手段, 严格遵守规范的报告标准对中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎(chronic atrophy gastritis)的疗效进行了评估, 给广大临床工作者提供参考。

孔岩君, 李勇, 李文林, 刘皓, 魏睦新. 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎疗效的Meta分析. 世界华人消化杂志. 2013; 21(20): 1982-1986 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1982.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1982>

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophy gastritis, CAG)是以胃黏膜萎缩变薄, 固有腺体减少或消失, 可伴有肠上皮化生、异型增生为病理特点的消化系统常见病、疑难病。多项研究表明CAG检出率与胃癌病死率正相关, 肠化生与胃癌的发病亦呈正相关^[1,2]。现代医学检查手段的发展有助于发现CAG的早期病变。治疗方法以药物治疗为主, 分为3方面: 一般西药、中医治疗和中西医结合, 后两者又可分为辨证分型论治、名医专方治疗、中西医结合等几方面, 其中以中西医结合最为重要^[3]。现有西药治疗CAG局限于症状的改善, 对于逆转萎缩, 特别是伴有肠腺化生或不典型增生的病理改变疗效不明确, 而中西医结合治疗具有一定优势, 但基于现有随机对照试验的样本量小等弊端对于试验结果可靠性的影响, 本文利用Meta分析通过对近年来的所有相关文献进行检索、筛选, 选出合适文献进行结果的合并, 从而通过循证医学的科学研究方法总结分析得到比任何一项单独的研究结果

更有说服力的综合结果(证据)^[4,5], 对中西医结合治疗CAG进行较为客观的评价。

1 材料和方法

1.1 材料 以“胃炎·萎缩性, 治疗, 临床, 中医药”等做关键词依次检索中国知网, 万方, 维普, 以“Randomized controlled trial, chronic atrophic gastritis, Chinese medicine, herbal medicine, traditional, medicine, random”检索Pubmed, Web of science, Embase, Clinical Trials.Gov, OVID和Cochran Library数据库中相关文献。文献限定为“随机对照试验(randomized clinical trial)”, 各数据库检索时间范围均为从该数据库最早收录的文献到2013-01-16为止。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)文献语言限定为中文和英文; (2)研究类型为随机对照试验; (3)研究对象为CAG患者(诊断标准为纤维胃镜检查, 参照《中华医学会慢性萎缩性胃炎诊断病例学》^[6]或《内科学》等国家公认诊断标准)^[7]; (4)试验组干预为一般西医治疗基础上配以中医治疗, 对照组干预为一般西医治疗; (5)研究结局由临床症状、胃镜表现、病理活检分级3方面综合评价。排除标准: (1)clinical trial网站上已完成但还无结果的试验; (2)存在会影响结果的混杂因素, 如同时服用了其他药物; (3)除了目标疾病还有合并症; (4)危重病例, 可能因恶化死亡不能完成治疗。

1.2.2 资料收集和分析: 文献检索过程由李文林和李勇完成, 如有分歧加入第三者讨论。

1.2.3 文献信息摘录及质量评价: 信息摘录: 摘录信息包括研究基本信息, 如作者、发表年份、样本量; 研究特点, 如试验设计类型, 观察对象, 干预、疗程、测量指标及结果; 混杂因素, 如资金来源, 文献作者对混杂因素的分析等。资料质量评价: 按Cochran中心的文献质量评价JADAD评分的7分计分法对纳入文献进行随机化、分配隐藏、盲法和随访4部分内容的评分。每部分积分按标准划分为0-2分, 总积分为0-7分。1-3分为低质量研究, 4-7分为高质量研究^[4,5]。信息的摘录和评分均由3人共同协商完成, 意见不统一时: 联系作者获取相关资料, 查阅资料获取证据支持。

统计学处理 采用Cochran协作网提供的RevMan5.2软件包进行分析, 当试验结果出现显著异质性时($P < 0.05$), 使用随机效应模式; 当试验结果无异质性($P > 0.20$)时, 则使用固定效应

■研究前沿

西医治疗本病多对症处理, 虽然有一定疗效但尚不理想, 同时存在副作用的问题。中医在运用辨证分型论治、名医专方、中西医结合疗法、针灸疗法等治疗CAG的临床研究中取得了丰硕的成果, 显示出中医药治疗CAG的独特优势, 成为近年来的热点, 能否有效逆转胃组织的萎缩和肠化仍是现代医学的难题。

■相关报道

夏愔愔和詹思延的《如何撰写高质量的流行病学研究论对于系统评价方法的规范性》提出了很多建设性意见, 对于临床研究以及系统评价的撰写都有着极大的指导价值。杨克虎的《系统评价指导手册》则更为详实地介绍了整个系统评价的过程以及Meta分析的具体实施方法。

■创新盘点

近年来,关于中西医结合治疗CAG的临床试验增多,但由于试验设计存在样本量小和方剂组成差异等缺陷,这常常使研究结果的准确性受到置疑,故本文希望通过循证医学的科学手段Meta分析来获得更为可靠地证据,为临床实践提供有价值的参考。

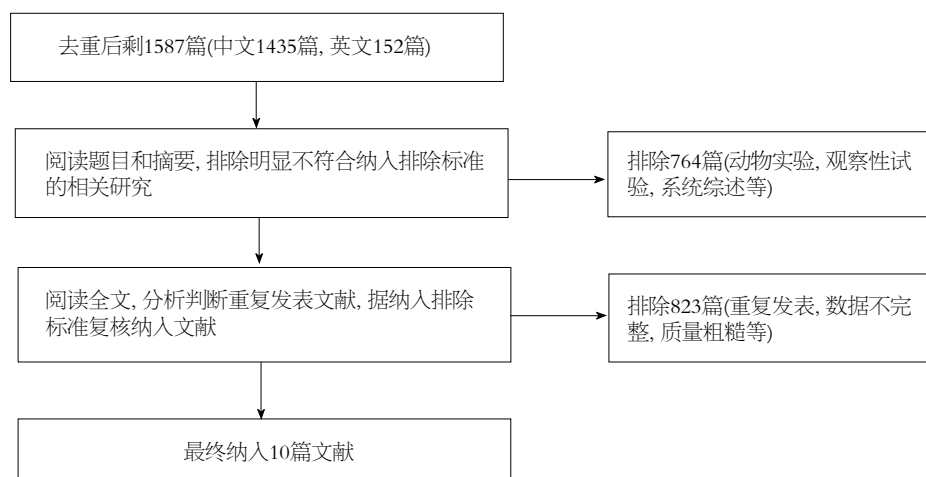


图1 文献纳入排除流程图. CAG: 慢性萎缩性胃炎.

模型. 本组试验结果 $P = 0.99 > 0.10$, $I^2 = 0\%$, 故选用固定效应模型. 对于计数资料, 使用Mantel-Hazellen法的比值比(odds ratio, OR)进行统计差异显著性的分析.

2 结果

2.1 检索结果 共检索出所有关于CAG治疗的文献中文文献1435篇, 英文文献152篇. 用文献处理软件NoteExpress2对初检文献归类、整理、去重; 阅读每篇文献的题目和摘要, 排除明显不符合纳入排除标准的相关研究; 阅读全文, 分析判断重复发表文献, 包括将同一篇文献或同一篇文献的主要数据在不同的期刊或会议论文中发表, 比如多中心临床试验就常以不同中心为单位发表, 此时如不排除后合并的话就会导致内容偏倚; 阅读全文, 根据纳入排除标准复核纳入文献, 对于有疑问的文章通过联系作者或作者单位解决. 最终纳入10篇文献, 共计CAG患者1039例(图1).

2.2 纳入文献的基本情况 如表1所示, 本文共纳入10篇文献进行分析, 其中只有文献[8]和文献[10]介绍了试验的随机方法, 质量评分较高, 其余均未详细介绍随机方法. 各试验设计的用药选择上有一定差异: 西医治疗原则均相同, 药物为抗幽门螺杆菌、增强胃动力和消炎3方面, 仅在具体用药上略有差异; 中药方剂均以党参、黄芪、白术、茯苓为主, 仅配伍略有不同.

2.3 中西医结合和单纯西药治疗CAG结果的比较 纳入文献治疗有效性的评价均由临床症状、胃镜表现和病理分级3个方面进行综合评判, 并且以后两者为主. 由Review Manager 5.2的异质性检验结果 $P = 0.99$, $I^2 = 0\%$, 表明研究数据具有

同质性, 故采用固定效应模型. 又合并效应量 $OR = 5.32 > 1$, 95%CI: 3.59-7.88; 合并效应量的检验 $Z = 8.34$; $P < 0.00001$. 当研究结局为不利事件时, $OR < 1$ 表示暴露会降低结局风险, 而当结局是有利时间(如本文取的是有效人数), $OR > 1$ 时表明暴露会降低结局风险^[18]. 故由此可知此次分析的结论是中西医结合治疗CAG的疗效优于单纯西医治疗(图2).

2.4 发表偏倚的检验 对于发表偏倚的检验本文用的是漏斗图, 漏斗图是以每个研究的处理效应估计值为X轴, 以样本含量或标准误, 或精确度(标准误的倒数)为Y轴的简单散点图. 由图3可知本文所纳10篇文献的发表偏倚较小(图3).

3 讨论

CAG属痞满、嘈杂、胃脘痛等病证范畴, 中医药治疗CAG采用辨证论治、个体化、方药随证加减, 重视整体治疗、侧重健脾扶正的思想, 从而改善患者症状, 延缓萎缩进展, 且不良反应少, 甚或逆转萎缩^[19]. 本次系统评价提示, 中西医结合改善CAG较单纯西医治疗有优势. 这可能是因为西医治疗着重对症, 而中医药治疗着重从根本上补正, 故中西医结合标本兼治, 疗效明显优于单用西药.

系统评价方法学的局限性: (1)偏倚: 本文作者在文献的检索、筛选和资料提取的整个过程都对怎样减少分析过程中可能产生的偏倚投入了极大的精力, 但一些不可避免的偏倚仍然存在, 比如抽屉文献, 阳性结果更易发表等所导致的发表偏倚, 欧美国家的中医药研究较少和一些小语种国家的文章难以被检索所致的语言偏倚, 数据库中标引不准确或错误导致相关文献

表 1 所纳文献的基本特征和质量评价

作者	年份	<i>n</i>	治疗			<i>n</i>	对照			JADAD评分				
			平均年龄(岁)	平均病程(年)	治疗干预		平均年龄(岁)	平均病程(年)	对照干预	随机方法	分配隐藏	盲法	失访情况	总分
王阳等 ^[8]	2012	42	52.1 ± 11.5	15.4 ± 8.2	加活血化痰中药	42	52.1 ± 11.5	15.4 ± 8.2	常规西药	2	1	1	0	4
郭宏等 ^[9]	2012	78	21-69	1-18	加中药调理	78	23-67	2-19	常规西药	1	1	1	0	3
陈学彬等 ^[10]	2010	36	50.27 ± 9.73	6.35 ± 1.96	加用中药		51.97 ± 8.96	6.30 ± 1.98	胶体果胶铋, 黄连素片, 维酶素	2	1	1	0	4
屈静虹 ^[11]	2009	30	47.2 ± 7.5	无	加服中药	30	46.9 ± 6.4	无	胶体铋, 抗菌药, 奥美拉唑	1	1	1	0	3
冯宗平 ^[12]	2011	42	51.6	15.6	加服香砂六君子汤	45	51.8	16.8	西药三联疗法	1	1	1	0	3
王晓芳 ^[13]	2011	68	40.3	2.3	加服自拟中药温阳化痰汤	68	40.3	2.3	西药常规	1	1	1	0	3
邓玉宏 ^[14]	2006	56	47.86 ± 1.32	9.24 ± 1.38	中西医结合	54	47.58 ± 1.46	9.18 ± 1.42	西药常规	1	1	1	0	3
李仲禧 ^[15]	2008	96	43.21	10.2	加中药方剂	90	40.24	9.26	单纯西药	1	1	1	0	3
高东五 ^[16]	2012	32	47.5	9.5	加中药方剂	32	47.5	9.5	西医治疗	1	1	1	0	3
夏雨 ^[17]	2012	45	48	5.4	加服中药参芪养胃汤	45	48	5.4	西药常规	1	1	1	0	3

■应用要点

本文通过科学分析综合得出比单个小样本临床试验更为可靠地证据, 故对临床CAG的治疗提供了一定的参考价值; 另外, 对拓宽诊疗思维也有一定的价值, 结合中医和西医各自特点来治疗疾病或许会成为未来疾病治疗的一种趋势。

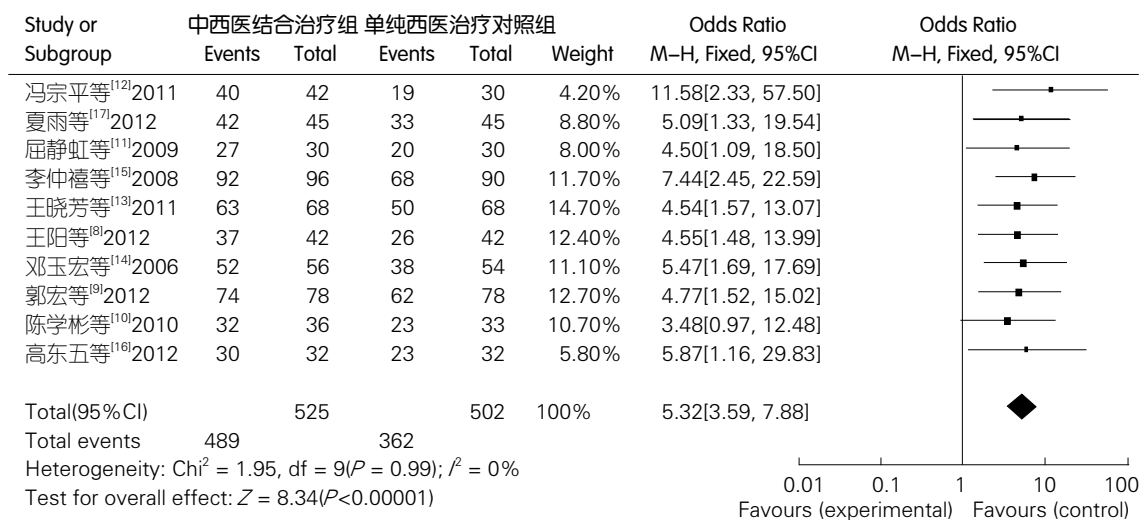


图 2 中西医结合和单纯西医治疗CAG疗效的比较

未被检出所致的标引偏倚; (2)混杂因素的控制: 本文主要通过纳入和排除标准的设定来控制混杂, 由于人对于生物和自然认识上的局限性等现在无法控制的因素, 分析结果中可能仍然存在一些潜在的混杂因素所产生的影响, 当然, 纳入排除标准的设定在提高研究内部真实性的同时也降低了外部真实性, 即: 此次分析的结果在临床不适用于那些不符合这些标准的人。

所纳文献的局限性: 所有文献, 存在样本量小, 缺乏样本量计算方法和对失访人数及随访

细节的具体描述的缺陷, 对于分配方案隐藏的描述也十分有限, 因此无法确定该试验中选择性偏倚和信息偏倚的情况。具体的, 随机方法的介绍不完全, 根据美国预防服务工作组评估系统对于临床证据的分级, 仅文献[8]和文献[10]属于随机对照试验, 故不排除其余仅为非随机试验的可能, 但其证据等级位于其他分析性研究之上, 所以科学强度仍比其他分析性研究高。对于盲法, 因其只可能对结果中的主观测量指标产生一定影响, 对胃镜和病理这些客观测量

同行评价

本文对中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎的疗效进行了Meta分析,对临床具有一定的指导意义。

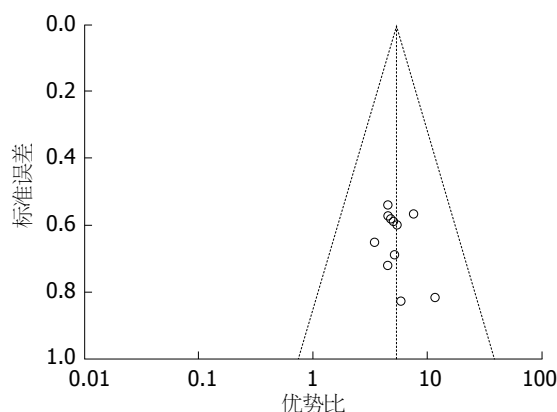


图3 发表偏倚的检验。

指标无影响,故测量偏倚不大。另外,由于本文研究的是中西医结合与西医疗效的比较,无奈在结局评价上受限于现有评分标准,未能将临床表现与病理检验分开评价,未能将病理检验结果中萎缩、肠化、慢性炎症、急性炎症及胃动力分别讨论,而只给出了综合临床表现和病理结果进行评分所得出的有效率,故结局评价比较粗糙。在中药试验中对于不良反应的研究报道也非常少见,本文所纳文献仅文献[13]在结局中对不良反应进行了评价,该文显示中西医结合观察组较纯西医对照组不良反应少。

总之,胃病不同于其他疾病,中医治胃病,治病求本的思想在治疗胃部疾病中有着很好的体现,而且中医与西医有着不同的思维方式,两者的结合可以弥补对方的一些缺失,从而达到1加1大于2的效果,这一思路对拓宽我们临床实践的视野是有利的。本系统评价纳入的中西医结合治疗CAG的文献因数量及质量上的局限,尚需在今后的临床研究中进一步验证。今后的研究应致力于提高研究质量,采用真正充分的随机方法分组,并切实做好分配隐藏,尽量采用盲法评价疗效,在疗效评价上尽可能对多结局分开测量评价以提高研究的精确性与价值;研究

报告应采用国际通用的“随机对照试验报告标准(CONSORT)”详尽清楚地描述研究的设计和实施过程;采用国际通用的疗效量表和终点测量指标。

参考文献

- Hoshi T, Sasano H, Kato K, Ohara S, Shimosegawa T, Toyota T, Nagura H. Cell damage and proliferation in human gastric mucosa infected by *Helicobacter pylori*--a comparison before and after *H. pylori* eradication in non-atrophic gastritis. *Hum Pathol* 1999; 30: 1412-1417 [PMID: 10667417]
- 吴晓燕, 朱方石, 王伟. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎临床研究进展. *江苏中医药* 2009; 41: 81-82
- 孙志宇, 顾勤. 慢性萎缩性胃炎中医诊治进展. *辽宁中医药大学学报* 2008; 10: 49-50
- 夏愔愔, 詹思延. 如何撰写高质量的流行病学研究论. *中华流行病学杂志* 2007; 28: 618-620
- 杨克虎. 系统评价指导手册. 第1版. 北京: 人民卫生出版社. 2010: 6-9
- 中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研讨会共识意见. *中华消化杂志* 2000; 6: 199-201
- 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社出版. 2008: 382-396
- 王阳. 活血化瘀法联合西药治疗慢性萎缩性胃炎42例. *中国中西医结合消化杂志* 2012; 20: 373-374
- 郭宏. 慢性萎缩性胃炎临床治疗效果观察. *医学检验* 2012; 16: 108
- 陈学彬, 朱妮, 李联社, 路亚娥, 陈美芳. 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎临床观察. *山西中医* 2010; 26: 24-25
- 屈静虹. 慢性萎缩性胃炎治疗分析. *中外医疗* 2009; 36: 58
- 冯宗平. 香砂六君子汤加减联合西药治疗慢性萎缩性胃炎42例. *中医药导报* 2011; 17: 106-107
- 王晓芳. 中西药结合治疗慢性萎缩性胃炎68例疗效观察. *中国医学工程* 2011; 19: 35
- 邓玉宏. 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎56例临床观察. *中医药导报* 2006; 12: 18-19
- 李仲禧. 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎96例临床观察. *中医药导报* 2008; 14: 39-40
- 高东五, 刘小卫, 陈万军. 慢性萎缩性胃炎的诊断及中西医结合治疗. *临床和实验医学杂志* 2012; 11: 748-749
- 夏雨. 中西医结合治疗慢性萎缩性胃炎45例临床观察. *中国医药指南* 2012; 10: 300-301
- 文进, 李幼平. Meta分析中效应尺度指标的选择. *中国循证医学杂志* 2007; 7: 606-613
- 周阿高, 李琰. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎文献荟萃分析. *中国实验方剂学杂志* 2010; 16: 120-123

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃癌中CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3的去甲基化

王柏清, 刘文天, 刘应莉, 孙光斌

王柏清, 孙光斌, 天津市第五中心医院消化科 天津市 300450
刘文天, 刘应莉, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052
王柏清, 硕士, 主要从事胃癌发病机制方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由刘文天与孙光斌设计; 研究过程由王柏清与孙光斌完成; 数据分析由王柏清、孙光斌及刘应莉共同完成; 本论文写作由王柏清完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市塘沽区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化科。sun19660901@sina.com

收稿日期: 2013-05-01 修回日期: 2013-05-24

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

DNA hypomethylation of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 genes in gastric carcinoma

Bai-Qing Wang, Wen-Tian Liu, Ying-Li Liu, Guang-Bin Sun

Bai-Qing Wang, Guang-Bin Sun, the Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Wen-Tian Liu, Ying-Li Liu, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, 41 Zhejiang Street, Tanggu District, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2013-05-01 Revised: 2013-05-24

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the hypomethylation of cancer associated antigen gene (CAGE), melanoma antigen gene A1 (MAGE-A1) and melanoma antigen gene A3 (MAGE-A3) promoters and clinicopathological features of gastric carcinoma.

METHODS: The methylation status of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 promoter CpG islands was detected by MSP in 30 gastric carcinoma samples and 25 normal controls. The relationship between hypomethylation of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 promoters and clinicopathological features of gastric carcinoma was analyzed.

RESULTS: The rates of hypomethylation of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 promoters in gastric carcinoma were significantly higher than those in normal controls (80.0% vs 4.0%, 60.0% vs 0.0%, 46.7% vs 8.0%, all $P < 0.05$). Hypomethylation of CAGE promoter was significantly correlated with lymphatic metastasis and TNM stage ($P = 0.016, 0.026$), hypomethylation of MAGE-A1 promoter was significantly correlated with tumor differentiation and TNM stage ($P = 0.042, 0.002$), and hypomethylation of MAGE-A3 promoter was significantly correlated with tumor differentiation and lymphatic metastasis ($P = 0.034, 0.026$).

ylation of CAGE promoter was significantly correlated with lymphatic metastasis and TNM stage ($P = 0.016, 0.026$), hypomethylation of MAGE-A1 promoter was significantly correlated with tumor differentiation and TNM stage ($P = 0.042, 0.002$), and hypomethylation of MAGE-A3 promoter was significantly correlated with tumor differentiation and lymphatic metastasis ($P = 0.034, 0.026$).

CONCLUSION: The hypomethylation of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 promoter CpG islands may be used as a biomarker to estimate the differentiation, lymphatic metastasis and TNM stage of gastric carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cancer associated antigen gene; Melanoma antigen gene A1; Melanoma antigen gene A3; DNA hypomethylation; Gastric carcinoma

Wang BQ, Liu WT, Liu YL, Sun GB. DNA hypomethylation of CAGE, MAGE-A1 and MAGE-A3 genes in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1987-1991 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1987.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1987>

摘要

目的: 探讨肿瘤相关抗原基因(cancer associated antigen gene, CAGE)、黑色素瘤抗原基因-A1(melanoma antigen gene A1, MAGE-A1)、黑色素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene A3, MAGE-A3)启动子区去甲基化与胃癌临床特点的关系和意义。

方法: 应用甲基化特异性PCR(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)的方法检测30例胃癌和25例正常胃黏膜标本中CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3基因启动子区的去甲基化状态, 并分析其与胃癌临床病理参数间的关系。

结果: 胃癌组CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3基因启动子去甲基化阳性率(80.0%、60.0%、46.7%)均明显高于正常胃黏膜组(4.0%、0.0%、8.0%, $P < 0.05$)。胃癌组中, CAGE基因

■背景资料

肿瘤相关抗原基因(cancer associated antigen gene, CAGE)、黑色素瘤抗原基因-A1(melanoma antigen gene A1, MAGE-A1)、黑色素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene A3, MAGE-A3)的表达受甲基化/去甲基化机制的调节, 与肿瘤的发生、发展密切关系。目前有关这三种基因启动子区去甲基化状态与临床病理特征关系的研究较少。本实验通过对这三种基因启动子区去甲基化状态的初步研究, 来探讨三种基因启动子区去甲基化在胃癌发生、发展中的作用。

■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西医科大学消化内科

■研究前沿

肿瘤组织中普遍存在癌基因启动子区的低甲基化, 癌基因低甲基化可以作为肿瘤的生物学标志之一, 用于肿瘤的临床检测。在众多肿瘤相关基因中, 癌/睾丸抗原基因是肿瘤特异性表达的基因, 被认为是肿瘤发生的早期事件, 可用于恶性肿瘤的早期诊断, 对监测肿瘤的转移与复发具有重要作用。

启动子区去甲基化与淋巴转移和临床分期有关($P = 0.016$; $P = 0.026$); *MAGE-A1*基因启动子区去甲基化与组织分化程度和临床分期有关($P = 0.042$; $P = 0.002$); *MAGE-A3*基因启动子区去甲基化与淋巴转移和组织分化程度有关($P = 0.034$; $P = 0.026$)。

结论: *CAGE*、*MAGE-A1*和*MAGE-A3*基因启动子区去甲基化的检测可能有助于判断胃癌的组织分化程度、淋巴结转移和临床分期, 有可能成为胃癌治疗及判断预后的分子标志物。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肿瘤相关抗原基因; 黑色素瘤抗原基因-A1; 黑色素瘤抗原基因-A3; DNA低甲基化; 胃癌

核心提示: 胃癌组肿瘤相关抗原基因(cancer associated antigen gene)、黑色素瘤抗原基因-A1(melanoma antigen gene A1)、黑色素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene A3)启动子去甲基化阳性率均明显高于正常胃黏膜组, 并与胃癌的临床特征存在联系。对这3种基因启动子区去甲基化的检测可能有助于判断胃癌的组织分化程度、淋巴结转移和临床分期, 有可能成为胃癌治疗及判断预后的分子标志物。

王柏清, 刘文天, 刘应莉, 孙光斌. 胃癌中*CAGE*、*MAGE-A1*和*MAGE-A3*的去甲基化. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1987-1991 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1987.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1987>

0 引言

肿瘤相关抗原基因(cancer associated antigen gene, *CAGE*)、黑色素瘤抗原基因-A1(melanoma antigen gene A1, *MAGE-A1*)、黑色素瘤抗原基因-A3(melanoma antigen gene A3, *MAGE-A3*)基因的表达受甲基化/去甲基化机制的调节, 在一些肿瘤组织中发生启动子区的去甲基化而表达, 与肿瘤的发生、发展关系密切^[1-4]。尽管目前国内有关3种基因在各种肿瘤中表达的研究已有多年, 但有关胃癌组织中*CAGE*、*MAGE-A1*和*MAGE-A3*基因启动子区去甲基化状态以及基因去甲基化与临床病理特征关系的研究则较少, 而且多是针对欧美等种族人群, 故本实验通过对国人胃癌组织中*CAGE*、*MAGE-A1*和*MAGE-A3*基因启动子区去甲基化状态的初步研究, 来探讨3种基因启动子区去甲基化在胃癌发生、发展中的作用, 以揭示胃癌发病机制并寻找可用于胃癌诊断、治疗及判断预后的分子标志物。

1 材料和方法

1.1 材料 55例新鲜活检标本均取自天津医科大学总医院胃镜室。活检标本经蒸馏水清洗, 液氮速冻后于-70 °C冰箱保存。胃癌标本30例, 男18例, 女12例, 平均年龄58岁。胃癌组织依组织学类型分为腺癌组、印戒细胞癌组和未分化癌组, 依分化程度分为高分化组、中分化组和低分化组; 依淋巴转移情况分为有淋巴转移组和无淋巴转移组; 以临床分期分为I+II期组和III+IV期组。正常对照组25例, 其中男14例, 女11例, 平均年龄52岁。

1.2 方法 甲基化特异性PCR(methylation specific polymerase chain reaction, MSP): (1)组织DNA的提取: 按照基因组DNA提取试剂盒(博日科技)操作说明进行操作, 提取基因组DNA后经过紫外分光光度计及1%的琼脂糖凝胶检测DNA含量和纯度($A_{260/280} > 1.8$)。经亚硫酸氢盐修饰和纯化回收的DNA进行MSP反应。设立去甲基化阳性对照(采用经亚硫酸盐处理的睾丸组织DNA), 甲基化阳性对照(经*Sss*I甲基转移酶处理的正常人外周血DNA)和阴性对照(去离子水); (2)引物序列: *CAGE*、*MAGE-A1*和*MAGE-A3*基因甲基化(M)和去甲基化引物(U)的设计参照Kaneda等^[5]和Cho等^[6]报告的文献, 引物序列见表1; (3)MSP反应: 反应体系如下(总反应体积为25 μL): 10×Taq Buffer(含Mg²⁺)2.0 μL, 上游引物(20 μmol/L)1.0 μL, 下游引物(20 μmol/L)1.0 μL, dNTPs(2.5 μmol/L)2.0 μL, Taq酶(5 U/μL)0.2 μL, 亚硫酸氢钠修饰DNA 4 μL; 反应条件: *CAGE*-M及*CAGE*-U: 95 °C预变性3 min. 循环步骤: 95 °C, 30 s; 57 °C, 30 s; 72 °C, 60 s; 共35个循环。循环结束后于72 °C延伸7 min. *MAGE-A1*-M及*MAGE-A1*-U: 95 °C预变性5 min. 循环步骤为: 95 °C, 30 s; 0 °C, 30 s; 72 °C, 60 s; 共35个循环。循环结束后于72 °C延伸7 min; *MAGE-A3*-M及*MAGE-A3*-U: 95 °C预变性5 min. 循环步骤为: 95 °C, 30 s; 55 °C, 45 s; 72 °C, 60 s; 共35个循环。后于72 °C再延伸7 min. 反应结束后, 取5 μL PCR反应产物于1%琼脂糖凝胶中电泳, 于UVP凝胶成像系统内观察并拍摄结果(图1)。

统计学处理 本研究采用SPSS13.0统计软件, 采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法对数据进行检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 正常胃黏膜与胃癌组织中*CAGE*、*MAGE-A1*、

■相关报道

Tao等研究发现化学致癌物诱发的大鼠肝癌结节中*raf*、*c-myc*、*c-fos*、*c-H-ras*、*c-K-ras*基因启动子区发生低甲基化。Braga等报道在上皮性肿瘤乳腺癌、肾细胞癌和卵巢癌中, 癌基因*RHOA*启动子区发生低甲基化。Nishikuni等采用芯片技术分析了1383个基因的甲基化状态, 发现在胃癌组织中包括癌基因*ELK1*、*FRAT2*、*RHOB*和*RHO6*等在内的159个基因启动子区发生了低甲基化。

表 1 CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3的引物序列

基因	状态	引物序列
CAGE	M	上游: 5'-TTTTATACGATTTCGGAATTCGAC-3' 下游: 5'-CAA ATCTACGACCTATTTCCCG-3'
	U	上游: 5'-GTTTTTATATGATTTGGAATTTGAT-3' 下游: 5'-AATTCAAATCTACAACCTATTTCCCA-3'
MAGE-A1	M	上游: 5'-TTCGGGTGTTTCGGATGTGAC-3' 下游: 5'-CCTAAATCAAATTCCTCGACCG-3'
	U	上游: 5'-TTTGGGTGTTTGGATGTGAT-3' 下游: 5'-CCTAAATCAAATTCCTCAACCA-3'
MAGE-A3	M	上游: 5'-TTTGTTTCGGAATTTAGGGTAGTATC-3' 下游: 5'-GTCGCTCGTTACTCAAACG-3'
	U	上游: 5'-TGTTTGGAATTTAGGGTAGTATTGT-3' 下游: 5'-TGTTTGGAATTTAGGGTAGTATTGT-3'

M: 甲基化; U: 去甲基化. CAGE: 肿瘤相关抗原基因; MAGE-A1: 黑色素瘤抗原基因-A1; MAGE-A3: 黑色素瘤抗原基因-A3.

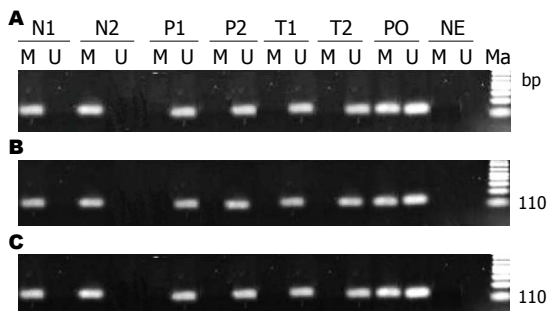


图 1 CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3 MSP后的电泳图. A: CAGE; B: MAGE-A1; C: MAGE-A3. M: 甲基化MSP扩增结果; N: 非甲基化MSP扩增结果; N1、N2: 正常胃黏膜; P1、P2: 癌前病变组织; T1、T2: 胃癌组织; PO: 阳性对照; M: 甲基化阳性对照; U: 非甲基化阳性对照; NE: 阴性对照; Ma: Marker(引物M扩增出目的条带而引物U无条带扩出为甲基化; 引物U扩增出目的条带而引物M无条带扩出为非甲基化; 两对引物均扩增出目的条带, 为半甲基化或部分甲基化; 后两种情况均为去甲基化). CAGE: 肿瘤相关抗原基因; MAGE-A1: 黑色素瘤抗原基因-A1; MAGE-A3: 黑色素瘤抗原基因-A3.

MAGE-A3基因启动子区去甲基化阳性率的比较. 正常胃黏膜中的CAGE、MAGE-A1、MAGE-A3基因启动子区的去甲基化阳性率分别为4.0%、0.0%、8.0%. 胃癌组织中3种基因启动子区的去甲基化阳性率分别为80.0%、60.0%、46.7%, 两组间分别进行CAGE、MAGE-A1、MAGE-A3基因启动子区的去甲基化阳性率比较, 胃癌组明显高于正常对照组, 且差异均具有统计学意义($P<0.05$).

2.2 胃癌组织中CAGE、MAGE-A1、MAGE-A3基因启动子区甲基化阳性率与胃癌临床病理特征的关系. 由表2可知, CAGE、MAGE-A1、

MAGE-A3基因启动子区甲基化阳性率与患者性别、年龄、胃癌的组织学类型无关($P>0.05$). 胃癌组中, CAGE基因启动子区去甲基化与淋巴转移和临床分期有关; MAGE-A1基因启动子区去甲基化与组织分化程度和临床分期有关; MAGE-A3基因启动子区去甲基化与淋巴转移和组织分化程度有关($P<0.05$).

3 讨论

胃癌的发生同其他肿瘤一样, 有癌基因的过度表达和/或抑癌基因的失活. DNA的异常甲基化, 即抑癌基因的甲基化与癌基因的去甲基化被认为是抑癌基因失活和癌基因激活的主要机制, 可分为DNA高甲基化和DNA低甲基化, 前者指DNA不发生甲基化的位点被甲基化; 后者指DNA发生甲基化的位点未甲基化. 已有大量的研究证实, 在肿瘤的发生、发展过程中DNA低甲基化比高甲基化更为常见. DNA低甲基化具有肿瘤特异性, 是癌变过程中早期的分子异常之一, 可用来作为肿瘤诊断的生物学标志物^[7,8]. 并且与其他类型的肿瘤标志物相比, 检测启动子区CpG岛异常甲基化的优点是方法灵敏度高, 特异性好, 样品容易获得且用量少. 因此, 肿瘤相关基因启动子区CpG岛异常甲基化的研究正日益成为一个热点.

癌/睾丸抗原(cancer-testis antigen, CTA)基因的表达与肿瘤相关. 通常在正常组织中, CTA基因启动子区处于甲基化状态, 抑制转录因子与该基因的结合, 致使其无法表达; 而在肿瘤细

■创新盘点

本文应用MSP方法检测了CAGE、MAGE-A1和MAGE-A3基因启动子区去甲基化状态, 揭示了胃癌组这3种基因启动子去甲基化阳性率均明显高于正常胃黏膜组.

■应用要点

胃癌中*CAGE*、*MAGE-A1*、*MAGE-A3*基因启动子区存在去甲基化改变,并与胃癌的临床病理特征之间存在联系,提示这3种基因有可能作为胃癌早期诊断、治疗及判断预后的分子标志物。同时基因启动子区低甲基化是癌基因活化的一种方式,仍有许多问题有待解决,如胃癌中是否有特异性的分子标志物、有无特异性的低甲基化位点等。

表 2 *MAGE*、*CAGE-A1*、*CAGE-A3*基因启动子区甲基化阳性率与临床病理特征的关系

临床病理指标	<i>n</i>	<i>MAGE-A1</i>			<i>MAGE-A3</i>			<i>CAGE</i>		
		UM ⁺	M ⁺	<i>P</i> 值	UM ⁺	M ⁺	<i>P</i> 值	UM ⁺	M ⁺	<i>P</i> 值
性别										
男	18	12	6	0.458	8	10	0.45	15	3	0.66
女	12	6	6		6	6		9	3	
年龄(岁)										
≥50	21	12	9	0.704	10	11	0.873	18	3	0.329
<50	9	6	3		4	5		6	3	
组织学类型										
腺癌	20	11	9	0.571	9	11	0.791	17	3	0.248
印戒细胞癌	5	4	1		2	3		4	1	
未分化癌	5	3	2		3	2		3	2	
分化程度										
高	8	2	6	0.042 ¹	1	7	0.034 ¹	5	3	0.305
中	11	7	4		5	6		9	2	
低	11	9	2		8	3		10	1	
淋巴转移										
有	19	13	6	0.266	12	7	0.026 ¹	18	1	0.016 ¹
无	11	5	6		2	9		6	5	
临床分期										
I+II期	12	3	9	0.002 ¹	4	8	0.284	7	5	0.026 ¹
III+IV期	18	15	3		10	8		17	1	

¹Fisher确切概率法检验有统计学意义; UM⁺: 去甲基化; M⁺: 甲基化. *CAGE*: 肿瘤相关抗原基因; *MAGE-A1*: 黑色素瘤抗原基因-A1; *MAGE-A3*: 黑色素瘤抗原基因-A3.

胞中,该基因启动子区发生了去甲基化,从而导致其蛋白表达。此类基因所表达的蛋白质具有以下特征:仅限于配子发育系统组织和肿瘤组织中;表达其编码基因主要位于染色体上,多数为多基因家族;在肿瘤患者中具有免疫原性;在不同的肿瘤组织中其表达率不同;其表达与肿瘤的转移和恶化相关^[9-11]。*CAGE*、*MAGE-A1*、*MAGE-A3*三者均属于癌/睾丸抗原基因。此类基因是肿瘤特异性表达的基因,被认为是肿瘤发生的早期事件。因此,可用于恶性肿瘤的早期诊断,对监测肿瘤的转移与复发具有重要作用。

已有许多研究证实,*CAGE*基因启动子区的去甲基化与肿瘤的发生发展密切相关。Cho等^[1]发现在乳腺癌、肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌中*CAGE*基因启动子区发生了去甲基化,而正常前列腺、慢性肝炎、正常结肠黏膜组织中,启动子区为甲基化表现;在胃癌组织中,*CAGE*基因启动子区去甲基化阳性率为78%。Cho等^[6]研究发现,胃癌组织中*CAGE*基因的表达率为89%,并且*CAGE*基因的表达与*CAGE*基因启动子区的去甲基化有关。本实验的*CAGE*基因启动子区去甲基化阳性率与Cho等^[1]报道的*CAGE*基因表达

率有一定的差别,提示*CAGE*基因启动子区去甲基化可能并非*CAGE*基因表达的唯一原因。目前国内有关胃癌中*CAGE*基因启动子区去甲基化状态以及去甲基化与胃癌临床特征关系的研究则较少。本次试验发现,*CAGE*基因启动子区去甲基化与胃癌有淋巴结转移和临床分期密切相关,这提示检测*CAGE*基因启动子区的去甲基化,可能有助于判断胃癌的预后。*CAGE*基因启动子区去甲基化阳性率逐渐升高提示可能预示疾病正在进展,预后不良。由于DNA甲基化是一种可逆的遗传修饰方式,因而可以对*CAGE*基因低表达的肿瘤患者给予去甲基化药物,以提高*CAGE*基因的表达,增强特异性CTL的杀伤活力,可能有助于肿瘤的治疗。

MAGE-A1、*MAGE-A3*基因启动子区去甲基化同样被证实与肿瘤的发生发展关系密切。Zhang等^[3]发现在结直肠癌细胞株和组织中*MAGE-A1*、*MAGE-A3*基因启动子区呈去甲基化,而正常组织的启动子区为甲基化表现。研究还发现,*MAGE-A1*基因启动子区去甲基化与结直肠癌的发生部位和性别有关,远端结直肠癌和女性*MAGE-A1*基因启动子区去甲基化水

平高, 女性MAGE-A3基因启动子区去甲基化水平高. 严茂军等^[12]发现结直肠癌和腺瘤组织中MAGE-A1和MAGE-A3基因启动子区去甲基化阳性率明显高于正常组织, 并且MAGE-A1和MAGE-A3基因启动子区去甲基化都与肿瘤组织分化程度和有无淋巴结转移密切相关, 分化程度较低和有淋巴结转移的启动子区去甲基化阳性率高. 提示我们若采用MAGE-A1和MAGE-A3基因表达产物作为抗原进行免疫治疗, 那么治疗前患者病变部位的组织分化程度和有无淋巴转移是应该考虑的. 此外, 本次试验还发现MAGE-A1基因启动子区去甲基化与肿瘤的临床分期有关, 故综合多基因检测, 可以为肿瘤治疗方案的选择提供参考.

总之, 胃癌中CAGE、MAGE-A1、MAGE-A3基因启动子区存在去甲基化改变, 并与胃癌的临床病例特征之间存在联系, 提示这3种基因有可能作为胃癌早期诊断、治疗及判断预后的分子标志物. 同时, 值得注意的是, 基因启动子区低甲基化是癌基因活化的一种方式. 有关胃癌中DNA低甲基化的报道不多, 仍有许多问题有待解决, 如胃癌中无特异性的分子标志物、有无特异性的低甲基化位点、基因启动子区去甲基化与转录表达的确切的机制等^[3,13,14].

4 参考文献

- 1 Cho B, Lee H, Jeong S, Bang YJ, Lee HJ, Hwang KS, Kim HY, Lee YS, Kang GH, Jeoung DI. Promoter hypomethylation of a novel cancer/testis antigen gene CAGE is correlated with its aberrant expression and is seen in premalignant stage of gastric carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 307: 52-63 [PMID: 12849980 DOI: 10.1016/S0006-291X(03)01121-5]
- 2 Lee TS, Kim JW, Kang GH, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. DNA hypomethylation of CAGE promoters in squamous cell carcinoma of uterine cervix. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1091: 218-224 [PMID: 17341616 DOI: 10.1196/annals.1378.068]
- 3 Zhang S, Zhou X, Yu H, Yu Y. Expression of tumor-specific antigen MAGE, GAGE and BAGE in ovarian cancer tissues and cell lines. *BMC Cancer* 2010; 10: 163 [PMID: 20423514 DOI: 10.1186/1471-2407-10-163]
- 4 Ogata K, Aihara R, Mochiki E, Ogawa A, Yanai M, Toyomasu Y, Ando H, Ohno T, Asao T, Kuwano H. Clinical significance of melanoma antigen-encoding gene-1 (MAGE-1) expression and its correlation with poor prognosis in differentiated advanced gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1195-1203 [PMID: 21042944 DOI: 10.1245/s10434-010-1399-z]
- 5 Kaneda A, Tsukamoto T, Takamura-Enya T, Watanabe N, Kaminishi M, Sugimura T, Tatematsu M, Ushijima T. Frequent hypomethylation in multiple promoter CpG islands is associated with global hypomethylation, but not with frequent promoter hypermethylation. *Cancer Sci* 2004; 95: 58-64 [PMID: 14720328 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb03171.x]
- 6 Cho B, Lim Y, Lee DY, Park SY, Lee H, Kim WH, Yang H, Bang YJ, Jeoung DI. Identification and characterization of a novel cancer/testis antigen gene CAGE. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 292: 715-726 [PMID: 11922625 DOI: 10.1006/bbrc.2002.6701]
- 7 Scanlan MJ, Chen YT, Williamson B, Gure AO, Stockert E, Gordan JD, Türeci O, Sahin U, Pfreundschuh M, Old LJ. Characterization of human colon cancer antigens recognized by autologous antibodies. *Int J Cancer* 1998; 76: 652-658 [PMID: 9610721 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19980529)76:5<652::AID-IJC7>3.0.CO;2-P]
- 8 Chen YT, Scanlan MJ, Sahin U, Türeci O, Gure AO, Tsang S, Williamson B, Stockert E, Pfreundschuh M, Old LJ. A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 1914-1918 [PMID: 9050879]
- 9 Lucas S, De Plaen E, Boon T. MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-C2, and MAGE-C3: four new members of the MAGE family with tumor-specific expression. *Int J Cancer* 2000; 87: 55-60 [PMID: 10861452]
- 10 Rimoldi D, Salvi S, Schultz-Thater E, Spagnoli GC, Cerottini JC. Anti-MAGE-3 antibody 57B and anti-MAGE-1 antibody 6C1 can be used to study different proteins of the MAGE-A family. *Int J Cancer* 2000; 86: 749-751 [PMID: 10797302 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(20000601)86]
- 11 Riener MO, Wild PJ, Soll C, Knuth A, Jin B, Jungbluth A, Hellerbrand C, Clavien PA, Moch H, Jochum W. Frequent expression of the novel cancer testis antigen MAGE-C2/CT-10 in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2009; 124: 352-357 [PMID: 18942708 DOI: 10.1002/ijc.23966]
- 12 严茂军, 赵劲民, 苏伟, 陈芳, 刘庆仪. 黑色素瘤抗原基因在结直肠癌中的表达及意义. *山东医药* 2007; 47: 20-21
- 13 Wang WX, Li YB, Xie XL, Shu XL, Ouyang XH. [Detection of tumor cells in peripheral blood of patients with gastric cancer using mRNA of MAGE genes as markers]. *Zhonghua Weichang Waikie Zazhi* 2009; 12: 611-614 [PMID: 19921576]
- 14 Akiyama Y, Maruyama K, Tai S, Komiyama M, Iizuka A, Takikawa M, Ohshita C, Yamamoto A, Yamazaki N, Kiyohara Y, Yamaguchi K. Characterization of a MAGE-1-derived HLA-A24 epitope-specific CTL line from a Japanese metastatic melanoma patient. *Anticancer Res* 2009; 29: 647-655 [PMID: 19331215]

同行评价

本文具有一定的创新性, 设计基本合理, 有一定科学意义和临床价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



内镜腹腔镜治疗胰腺假性囊肿56例

钱东, 秦鸣放

■背景资料

胰腺假性囊肿(pancreatic pseudocysts, PPC)是临床最常见的胰腺囊性病变, 约占全部胰腺囊性病变的75%以上, 多继发于急慢性胰腺炎、胰腺外伤, 是胰液积聚而形成的局部包裹性囊肿, 囊壁无上皮细胞, 主要由肉芽组织、纤维结缔组织和血管等结构组成。

钱东, 秦鸣放, 天津市南开医院外三科 天津市 300100
钱东, 主治医师, 主要从事中西医结合治疗急腹症的研究。
作者贡献分布: 钱东完成临床病例的治疗和临床资料的采集; 秦鸣放负责临床病例治疗的指导。
通讯作者: 钱东, 主治医师, 300100, 天津市南开区二纬路122号, 天津市南开医院外三科。nkyywc@126.com
收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-06-01
接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-18

Diagnosis and treatment of pancreatic pseudocysts by endoscopy and laparoscopy: Our experience with 56 cases

Dong Qian, Ming-Fang Qin

Dong Qian, Ming-Fang Qin, Department of Surgery (Division III), Tianjin Nankai Hospital, Tianjing 300100, China
Correspondence to: Dong Qian, Attending Physician, Department of Surgery (Division III), Tianjin Nankai Hospital, 122 Erwei Road, Nankai District, Tianjing 300100, China. nkyywc@126.com
Received: 2013-03-21 Revised: 2013-06-01
Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To investigate the choice of minimally invasive treatments for pancreatic pseudocysts (PPC).

METHODS: Clinical data for 56 patients with PPC were retrospectively analyzed. The method of treatment was selected based on etiology, cyst formation time, adjacent organ position, and presence of intracystic infection or not.

RESULTS: Of 34 cases treated by endoscopic ultrasonography (EUS)-guided gastric or duodenal drainage, 33 were successful and 1 developed stent migration and underwent laparoscopic cyst drainage. Four cases were confirmed to have communication between cyst and the main pancreatic duct by ERCP, and two of them underwent pancreatic duct stent placement (ERPD). Of 9 cases undergoing laparoscopic cyst-jejunum Roux-en-Y anastomosis, 7 were successful and 2 were converted to open surgery. Four cases underwent laparoscopic cyst excision because cyst was too small and could

not be distinguished from pancreatic cystadenoma preoperatively, and one patient developed postoperative pancreatic leakage. Four patients underwent CT-guided puncture and external drainage of cyst.

CONCLUSION: Treatments for PPC are diverse, and selection of appropriate treatment based on the patient's situation is key to the treatment of PPC. With the development of endoscopic and laparoscopic technologies, traditional treatment methods will be gradually replaced by minimally invasive treatments.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic pseudocysts; Endoscopic ultrasonography; Laparoscopy

Qian D, Qin MF. Diagnosis and treatment of pancreatic pseudocysts by endoscopy and laparoscopy: Our experience with 56 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1992-1995 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1992.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1992>

摘要

目的: 探讨胰腺假性囊肿(pancreatic pseudocysts, PPC)微创治疗方法的选择。

方法: 回顾性分析56例PPC的临床资料, 根据囊肿形成的病因、时间、与相邻脏器位置、是否合并囊内感染, 选择治疗方法。

结果: 34例患者选择经超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)引导下经胃或十二指肠穿刺置管引流治疗, 成功33例, 1例因支架移位行腹腔镜囊肿外引流术。4例经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)证实囊肿与主胰管相通者2例放置胰管支架(pancreatic duct stent placement, ERPD)治疗。9例患者选择腹腔镜空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术, 7例成功, 2例中转开腹手术。3例行开腹空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术。4例因囊肿较小, 术前与胰腺囊腺瘤无法区别, 行腹腔镜囊肿切除术, 1例术后出现胰

■同行评议者
赵刚, 副教授, 协和医院胰腺病研究所

漏. 4例患者行经CT引导下囊肿穿刺外引流术.

结论: PPC的治疗趋向多样化, 根据囊肿的不同情况选择不同的治疗方式是治疗PPC的关键. 随着内镜技术和腹腔镜手术技术的不断进步, 将逐步取代传统的治疗方式.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺假性囊肿; 超声内镜; 腹腔镜

核心提示: 胰腺假性囊肿(pancreatic pseudocysts, PPC)的治疗方法较多, 根据囊肿的不同情况选择不同的治疗方式是治疗PPC的关键, 随着内镜技术和腹腔镜手术技术的不断进步, 将逐步取代传统的治疗方式.

钱东, 秦鸣放. 内镜腹腔镜治疗胰腺假性囊肿56例. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1992-1995 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1992.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1992>

0 引言

胰腺假性囊肿(pancreatic pseudocysts, PPC)多继发于急性慢性胰腺炎^[1]、胰腺外伤, 是胰液积聚而形成的局部包裹性囊肿, 囊壁上无上皮细胞, 主要由肉芽组织、纤维结缔组织和血管等结构组成. PPC是临床最常见的胰腺囊性病变, 约占全部胰腺囊性病变的75%以上^[2]. 其传统治疗方法包括保守治疗和外科手术治疗(内引流、外引流和囊肿切除), 随着超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)和腹腔镜技术的发展, PPC的治疗已趋向多向化. 我们对我中心2002-01/2012-12收治的56例PPC患者进行了回顾性总结, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组中男37例, 女19例, 年龄24-77岁, 平均年龄43.5岁. 其中PPC的病因依次是: 急性胰腺炎37例, 慢性胰腺炎17例, 胰腺外伤病史2例. 全部病例行B超及CT检查, 位于胰头部21例, 胰体尾部35例; 囊肿直径<5 cm者4例, 5-10 cm者43例, >10 cm者9例.

1.2 方法 PPC的外科治疗方法较多, 我们根据患者的年龄和PPC的大小、与相邻脏器的位置关系、囊液的性质等因素分别采取CT引导下外引流术、EUS引导下经胃或十二指肠囊肿引流术、经内镜胰管支架置入术、空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术、囊肿切除术等方法治疗, 取得了

较好的临床效果.

2 结果

2.1 CT引导下外引流术 本组有4例高龄患者因囊肿合并感染且患者无法耐受囊肿术和内镜治疗, 急诊选择经CT引导下囊肿外引流术, 穿刺置管吸出2000-3000 mL液体, 引流后囊肿消失或明显缩小, 消化系梗阻症状消失, 全身感染改善, 未出现胰漏等并发症.

2.2 EUS引导下经胃或十二指肠囊肿引流术 34例患者选择EUS引导下经胃或十二指肠穿刺引流治疗, 成功33例成功, 1例因支架移位致腹腔感染行腹腔镜囊肿外引流术. 33例患者中14例因术中引流囊液清亮行双塑料支架内引流治疗, 19例因为感染性囊液较在放置双塑料支架后又放置BD管外引流. 术后经BD管滴注含抗生素平衡液冲洗囊腔, 平衡液经塑料支架回流入胃或十二指肠内形成冲洗循环, 冲洗时间为21-62 d. 3 mo后复查CT, 24例囊肿消失, 6例囊肿明显缩小, 3例患者囊肿缩小不明显考虑内引流不畅, 后经CT引导下穿刺置入8FR引流管行外引流后冲洗3 wk后复查CT囊肿明显缩小.

2.3 经内镜胰管支架置入术 4例患者磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)提示PPC伴有胰管扩张, 胰头部胰管狭窄, 经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)检查发现囊肿与主胰管相通, 2例患者成功放置胰管支架, 放置胰管支架患者术后半年复查CT发现囊肿明显缩小, 患者腹痛腹胀症状消失. 2例因胰管严重狭窄未能成功, 行开腹胰管空肠吻合术联合囊肿外引流术, 既解决胰管梗阻又能引流囊肿.

2.4 空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术 本组12例因囊肿未能与胃和十二指肠紧密相邻而选择空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术. 其中3例因既往上腹部手术史选择行开腹空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术, 9例选择腹腔镜空肠-囊肿Roux-en-Y吻合术, 7例成功, 2例因术中囊壁出血中转开腹.

2.5 囊肿切除术 4例因囊肿较小, 术前与胰腺囊腺瘤无法区别, 行腹腔镜囊肿切除术, 其中2例联合脾切除术. 1例术后出现胰漏, 经保守治愈.

3 讨论

PPC主要继发于急、慢性胰腺炎和胰腺损伤, 据文献统计, 2%-10%的急性胰腺炎发作可导致假性囊肿形成, 慢性胰腺炎合并假性囊肿的比例

■研发前沿

目前国内对PPC治疗的相关文章有的是传统开放手术治疗, 有的单一十二指肠镜治疗, 有的单一腹腔镜手术治疗, 目前还没有关于内镜腹腔镜多元化治疗方法的文章.

■创新盘点

文章研究领域中的研究热点、重点在于研究应用超声内镜技术和腹腔镜手术技术治疗PPC的具体方法和优点, 并初步探讨在PPC合并感染时具体操作方法的选择.

应用要点

文章中内镜和腹腔镜治疗PPC的多元化方法在国际上已经是得到肯定的方法,但目前国内尚没有文章对此做全面的描述,文章中的方法对于PPC的临床治疗有指导和借鉴作用。

为10%-30%^[3]。急性胰腺炎后假性囊肿是由于胰液的急性炎性渗出所致,伴有对胰腺和周围组织自身消化,而慢性胰腺炎后PPC是由于慢性胰腺炎导致胰管狭窄,胰管内压升高,局部胰管或小胰管破裂所致^[4,5]。过去认为囊肿>6 cm,形成时间>6 wk,囊壁完整成熟,出现囊肿压迫症状或合并囊内感染、出血或破裂等需干预治疗,治疗方法包括经皮置管引流和外科手术(内引流、外引流和囊肿切除)^[6-8]。随着PPC治疗方法的多样化,需根据PPC形成的原因、时间、与邻近脏器的位置关系医疗单位的实际条件和术者经验来选择合适的治疗方法。

外引流术一般适用于囊肿壁未成熟,又合并感染、出血、明显压迫症状等情况以及年老难以耐受内镜手术治疗者,本组4例患者均属于这种情况。外引流治疗简单易行,但是引流后体液丢失很大,容易导致水、电解质、酸碱平衡紊乱,并发症发生率较高,尤其是胰瘘,而且囊肿复发率高。因此我们认为外引流治疗只是治疗急性胰腺囊肿的权宜之计,应严格掌握其适应证。

内引流术是治疗PPC最常用且效果比较好的方法,适用于囊肿较大、囊壁厚且已经成熟的PPC。随着内镜和腹腔镜技术的断发展,内引流术的定义又得到了延伸,可分为EUS下穿刺内引流术、胰管支架置入内引流术、腹腔镜囊肿空肠吻合术和开腹囊肿空肠吻合术。

EUS穿刺引流术适用于与胃壁或十二指肠紧贴的囊肿的引流治疗。过去认为囊肿需形成6 wk才能治疗,因为内镜和EUS技术的进步,这一治疗指征已被修正^[9,10]。对于清亮囊液的引流一般只需放置多塑料支架引流即可。目前有部分学者对EUS引导下经胃穿刺置管引流术能否应用于感染性PPC存在异议,尤其是囊肿腔内有大量坏死组织时内镜能否彻底引流并且达到治愈是个关键问题。近年来随着大孔道内镜超声的应用,胰腺脓肿越来越多的通过内镜治疗。Shrode等^[11]在EUS引导下对18例感染性PPC患者成功放置鼻囊肿引流管治疗。我们也认为治疗感染性PPC,在放置多塑料支架的同时,还需放置BD管以便内镜后冲洗用。对于支架引流效果不理想的可行穿刺外引流术,术后经BD管持续冲洗经外引流管引流形成一个环路。本组34例内镜穿刺内引流的患者中19例放置BD管冲洗,复查CT,3例囊肿未见明显缩小,考虑穿刺位置非囊肿最低位,故支架引流不理想,在CT下于囊肿最低位置引入引流管后冲洗引流囊肿2-3 wk,复

查CT囊肿明显缩小。

囊肿空肠Roux-en-Y吻合术适用于与胃和十二指肠不紧连的较大成熟壁厚的囊肿^[12]。我们的经验认为应用Endo-GIA行吻合口吻合使得腹腔镜下行囊肿空肠Roux-en-Y吻合术和开腹手术相比在吻合口出血、吻合口漏等并发症的发生率方面无明显区别。在行腹腔镜手术时需要注意3个问题: (1)吻合口位置要选在囊肿最低位以便于引流,且尽可能结肠后吻合; (2)吻合口直径要>4 cm,以防止囊肿减压引流后囊壁塌陷致吻合口狭窄,造成囊肿引流不畅; (3)空肠输入襻的长度不应少于30 cm,避免囊肿逆行感染。

总之,PPC的治疗方法较多^[13],根据囊肿的大小、位置、性质等因素制定合适的治疗方法是治疗PPC的关键^[14]。内镜和腹腔镜治疗PPC具有创伤小、疗效确切、无需开腹等优点^[15],应当值得推广。

参考文献

- 1 华军,李海良.胰假性囊肿的形成机制和处理原则.医学综述 2005; 11: 519-521
- 2 Palanivelu C, Senthilkumar K, Madhankumar MV, Rajan PS, Shetty AR, Jani K, Rangarajan M, Maheshkumaar GS. Management of pancreatic pseudocyst in the era of laparoscopic surgery--experience from a tertiary centre. *Surg Endosc* 2007; 21: 2262-2267 [PMID: 17516116 DOI: 10.1007/s00464-007-9365-y]
- 3 Nan G, Siyu S, Xiang L, Sheng W, Guoxin W. Combined EUS-Guided Abdominal Cavity Drainage and Cystogastrostomy for the Ruptured Pancreatic Pseudocyst. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 785483 [PMID: 23533390 DOI: 10.1155/2013/785483]
- 4 D'Egidio A, Schein M. Pancreatic pseudocysts: a proposed classification and its management implications. *Br J Surg* 1991; 78: 981-984 [PMID: 1913122 DOI: 10.1002/bjs.1800780829]
- 5 Ang TL, Kwek AB, Tan SS, Ibrahim S, Fock KM, Teo EK. Direct endoscopic necrosectomy: a minimally invasive endoscopic technique for the treatment of infected walled-off pancreatic necrosis and infected pseudocysts with solid debris. *Singapore Med J* 2013; 54: 206-211 [PMID: 23624447 DOI: 10.11622/smedj.2013074]
- 6 张太平,赵玉沛,杨宁,廖泉,潘杰,蔡力行,朱预.胰腺假性囊肿治疗方式的选择与评价.中华外科杂志 2005; 43: 149-152
- 7 刘念.胰腺假性囊肿的治疗.肝胆外科杂志 2007; 15: 191
- 8 廖泉,赵玉沛,张太平,曹越,蔡力行,朱预.中华肝胆外科杂志 2004; 10: 814-816
- 9 De Angelis P, Romeo E, Rea F, Torroni F, Caldaro T, Federici di Abriola G, Foschia F, Calois C, Lucidi V, Dall'oglio L. Miniprobe EUS in management of pancreatic pseudocyst. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 255-260 [PMID: 23678380 DOI: 10.4253/wjge.v5.i5.255]
- 10 Khanna AK, Tiwary SK, Kumar P. Pancreatic pseudocyst: therapeutic dilemma. *Int J Inflam* 2012; 2012:

- 279476 [PMID: 22577595 DOI: 10.1155/2012/279476]
- 11 Shrode CW, Macdonough P, Gaidhane M, Northup PG, Sauer B, Ku J, Ellen K, Shami VM, Kahaleh M. Multimodality endoscopic treatment of pancreatic duct disruption with stenting and pseudocyst drainage: how efficacious is it? *Dig Liver Dis* 2013; 45: 129-133 [PMID: 23036185 DOI: 10.1016/j.dld.2012.08.026]
- 12 刘荣, 胡明根, 周宁新. 治疗性腹腔镜胰腺手术的临床应用. *肝胆外科杂志* 2006; 14: 180-183
- 13 Itoi T, Nageshwar Reddy D, Yasuda I. New fully-covered self-expandable metal stent for endoscopic ultrasonography-guided intervention in infectious walled-off pancreatic necrosis (with video). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 403-406 [PMID: 22926337 DOI: 10.1007/s00534-012-0551-5]
- 14 Varadarajulu S, Bang JY, Hebert-Magee S. Assessment of the technical performance of the flexible 19-gauge EUS-FNA needle. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 336-343 [PMID: 22817786 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.455]
- 15 Paulus EM, Zarza BL, Behrman SW. Routine peritoneal drainage of the surgical bed after elective distal pancreatectomy: is it necessary? *Am J Surg* 2012; 204: 422-427 [PMID: 22579230 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.02.005]

■同行评价

本文报告56例PPC的治疗经验,具有一定临床借鉴价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

布托啡诺联合异丙酚用于无痛肠镜70例

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲

■背景资料

肠镜操作时对肠道的充气和牵拉, 会引起患者的生理痛苦和心理恐慌。随着医学的发展, 近年来开始采用单用异丙酚或复合芬太尼的麻醉方法进行无痛肠镜检查, 然而, 高剂量的异丙酚有呼吸抑制作用, 存在一定风险, 镇痛效果也欠佳。布托啡诺是新型的混合阿片受体激动拮抗药, 具有镇痛效应强、不良反应小等优点。

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲, 河南省中医院麻醉科
河南省郑州市 450002

赵峰, 主治医师, 主要从事临床麻醉学的研究。

作者贡献分布: 本文研究设计由赵峰完成; 手术中麻醉由庞留成完成; 赵彦芬、张振华及毛轲共同参与本研究。

通讯作者: 赵峰, 主治医师, 450002, 河南省郑州市东风路6号, 河南省中医院麻醉科。q25789611@163.com

收稿日期: 2013-05-25 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-07-01 在线出版日期: 2013-07-18

Clinical effect of use of Bhutto butorphanol combined with propofol in painless colonoscopy: An analysis of 70 cases

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

Correspondence to: Feng Zhao, Attending Physician, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan Province, China. q25789611@163.com

Received: 2013-05-25 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-07-01 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To explore the application of Bhutto butorphanol combined with propofol in painless colonoscopy.

METHODS: One hundred and forty patients treated by painless colonoscopy were randomly and equally divided into either a control group or an observation group. The control group was intravenously injected with remifentanyl 1 µg/kg and propofol 2 mg/kg, while the observation group was intravenously injected with Bhutto butorphanol 15 µg/kg and propofol 2 mg/kg. Analgesic effects were compared between the two groups before anesthesia, intraoperatively and postoperatively. Changes in mean arterial pressure (MAP), venous oxygen saturation (SPO₂) and heart rate (HR) were monitored, and postoperative recovery time and adverse reactions such as respiratory disorder, abdominal

pain, dizziness, and vomiting were recorded.

RESULTS: MAP, SPO₂ and HR showed no significant differences in the two groups between before and after operation (observation group: 88 times/min vs 86 times/min; control group: 88 times/min vs 82 times/min). Postoperative awake time was significantly shorter in the observation group than in the control group (7.5 min ± 1.5 min, 12.5 min ± 3.5 min, $P < 0.01$). VAS pain score was significantly lower in the observation group than in the control group (2.57 ± 0.83 , 3.32 ± 1.25 , $P < 0.01$). The incidence of adverse reactions was also lower in the observation group than in the control group.

CONCLUSION: The use of Bhutto butorphanol combined with propofol in painless colonoscopy is associated with good analgesic effect, short postoperative recovery time and few adverse reactions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Bhutto butorphanol; Propofol; Painless colonoscopy; SPO₂

Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K. Clinical effect of use of Bhutto butorphanol combined with propofol in painless colonoscopy: An analysis of 70 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 1996-1999
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1996.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.1996>

摘要

目的: 探讨布托啡诺复合异丙酚在无痛肠镜检查中的应用。

方法: 使用随机数字表法将140例进行无痛肠镜检查的患者分为对照组和观察组各70例, 所有患者均首先应用1.5-2.0 mg/kg异丙酚至意识消失, 然后对照组患者给予缓慢静脉滴注瑞芬太尼1 µg/kg; 观察组静脉注入布托啡诺15 µg/kg; 检查中连续检测患者的生命体征和肢体反应, 比较两组患者和麻醉前、术中、术后的平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(blood oxygen saturation, SPO₂)和

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科;
李革, 副教授, 延边大学附属医院

心率(heart rate, HR)的变化, 记录手术时间、术后苏醒时间、VAS评分及术后呼吸障碍、腹痛、头晕、呕吐等不良反应的情况。

结果: 两组患者MAP、SPO₂和HR术后的变化与术前无统计学差异, 术后均有下降, 其中观察组HR由术前88次/min降至86次/min, 较对照组(88-82次/min)更为稳定。观察组的检查时间和术后清醒时间均少于对照组, 其中观察组术后清醒时间与对照组相比, 差异具有显著统计学意义(7.5 min±1.5 min vs 12.5 min±3.5 min, $P<0.01$), 观察组VAS疼痛评分均<4分, 但观察组疼痛感更低, 与对照组相比差异具有显著统计学意义(2.57±0.83 vs 3.32±1.25, $P<0.01$)。观察组不良反应情况发生少于对照组。

结论: 布托啡诺联合异丙酚进行无痛肠镜检查时镇痛效果良好, 患者术后清醒时间短, 不良反应少, 值得临床推广。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 布托啡诺; 异丙酚; 无痛肠镜; SPO₂

核心提示: 本文结果表明, 布托啡诺和异丙酚联合进行无痛肠镜检查可增强异丙酚的镇痛作用并改善麻醉效果, 同时还可减少麻醉药物用量, 有效提高无痛肠镜术的安全性和有效性, 减少不良反应和并发症的发生, 适合临床推广使用。

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲. 布托啡诺联合异丙酚用于无痛肠镜70例. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 1996-1999
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1996.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.1996>

0 引言

肠镜操作时对肠道的充气和牵拉, 会引起患者的生理痛苦和心理恐慌^[1]。随着医学的发展, 近年来开始采用单用异丙酚或复合芬太尼的麻醉方法进行无痛肠镜检查, 然而, 高剂量的异丙酚有呼吸抑制作用, 存在一定风险, 镇痛效果也欠佳^[2]。布托啡诺是新型的混合阿片受体激动拮抗药, 具有镇痛效应强、不良反应小等优点。因此, 本文对布托啡诺复合异丙酚在无痛肠镜检查中的安全性和有效性进行评估, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-06/2012-06于我院进行无痛肠镜检查的患者140例, 均为ASA分级 I - II 级, 采用双盲随机试验, 使用随机数字表法将入选患者分为对照组70例和观察组70例。其中对照

组患者, 男44例, 女26例, 年龄37-75岁, 平均年龄53.3岁±9.2岁, 体质量49-87 kg, 平均体质量66.7 kg±11.4 kg; 观察组患者, 男41例, 女29例, 年龄35-77岁, 平均年龄54.5岁±9.7岁, 体质量47-83 kg, 平均体质量63.2 kg±10.7 kg; 术前做好肠道准备, 排除上消化道溃疡出血者、严重肝肾功能障碍者及有麻醉药物过敏史和麻醉禁忌证的患者。两组患者一般资料如表1, 年龄、性别、体质量等差异无统计学意义($P>0.05$), 有可比性。所有患者于术前签署肠镜及经静脉药物麻醉知情同意书。

1.2 方法 常规监测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(blood oxygen saturation, SPO₂)和心率(heart rate, HR)的变化。建立静脉通路, 经静脉注入麻醉药物: 对照组为瑞芬太尼1 μg/kg, 异丙酚2 mg/kg; 观察组为布托啡诺15 μg/kg和异丙酚2 mg/kg; 均依次缓慢静注, 待患者意识和睫毛反射消失后插入肠镜进行检查; 于术前、术中(静注异丙酚2 min后)和术后监测MAP、SPO₂、HR的变化, 记录肠镜检查时间及术后苏醒时间, 观察术后患者呼吸障碍、腹痛、头晕、呕吐等不良反应的情况。疗效评定标准: 以置入肠镜时无咽部刺激反射(如呛咳), 无体动说明麻醉效果良好, 开始记录检查时间; 停药后清醒, 患者睁眼, 能明确指令意义, 记为术后苏醒时间。术后腹痛程度采用视觉模拟评分^[3](visual analogue scale/score, VAS): 0分为无痛, ≤3分: 有轻微的疼痛, 患者能忍受; 4-6分: 患者有疼痛感且影响睡眠, 尚能忍受; 7-9分: 患者有渐强烈的疼痛感, 疼痛难忍; 10分为难以忍受的最剧烈的疼痛。

统计学处理 数据采用SPSS13.0统计学软件进行处理。计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用 t 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组患者术中MAP、HR和SPO₂与术前相比均有下降, 但术后基本恢复正常, 其中观察组HR由术前88次/min降至86次/min, 较对照组(88-82次/min)更为稳定。观察组术中波动小, 术后指标恢复情况较好, 与对照组相比, 差异具有统计学差异($P<0.05$), 表明观察组使用的麻醉药物对血压和心率影响较小; SPO₂在检查过程中均>90%。

两组患者的检查时间如表2所示, 无明显差异, 但观察组术后清醒时间7.5 min±1.5 min短于对照组12.5 min±3.5 min, 差异具有显著统计

■研发前沿

异丙酚具有起效快, 苏醒快等优点, 常应用于无痛肠镜麻醉, 但其镇痛作用弱, 所用剂量大, 常与其他药物联合使用。

■相关报道

目前临床上多使用异丙酚进行无痛麻醉, 但镇痛作用弱, 如能与镇痛作用较强的药物联用, 则可大大减轻患者的痛苦。

■创新盘点

目前临床上少见布托啡诺与异丙酚的联用效果和安全性报道,本文可提供参考。

表 1 两组患者术前、术中和术后平均动脉压、静脉血氧饱和度和心率的变化 (mean ± SD)

组别	平均动脉压(mmHg)			静脉血氧饱和度(%)			心率(min ⁻¹)		
	术前	术中	术后	术前	术中	术后	术前	术中	术后
对照组	85.8 ± 12.4	80.6 ± 13.2	82.3 ± 10.6	98.5 ± 2.3	94.6 ± 3.1	97.1 ± 2.3	88.9 ± 14.5	75.2 ± 12.4	82.7 ± 14.4
观察组	85.1 ± 13.2	82.3 ± 13.5	85.2 ± 13.1	98.1 ± 2.5	96.2 ± 3.8	98.0 ± 2.4	88.5 ± 13.9	78.5 ± 13.3	86.9 ± 14.2
t值	0.32	0.75	1.66	0.98	2.72	2.27	0.17	1.52	1.74
P值	0.37	0.22	0.04	0.16	0.01	0.02	0.43	0.07	0.04

表 2 两组患者视觉模拟评分、检查时间和术后清醒时间对比 (min)

分组	检查时间(min)	清醒时间(min)	VAS评分
对照组	27.0 ± 6.5	12.5 ± 3.5	3.32 ± 1.25
观察组	25.5 ± 5.5	7.5 ± 1.5	2.57 ± 0.83
t值	1.47	10.98	4.18
P值	0.07	0.01	0.01

学差异($P < 0.01$), 两组VAS疼痛评分均 < 4 分, 但观察组(2.57 ± 0.83)疼痛感更低, 与对照组相比(3.32 ± 1.25), 差异具有显著统计学差异($P < 0.01$)。

观察组患者在无痛肠镜检查中出现腹痛7例, 头晕4例, 对照组患者出现腹痛7例, 头晕4例, 两组患者均没有出现呕吐和呼吸障碍现象, 观察组患者生的不良反应明显少于对照组。

3 讨论

门诊实施无痛检查技术对麻醉药物和辅助药物的选择非常重要。传统肠镜检查时间较长, 痛苦多, 往往伴随恶心、呕吐, 患者易感到恐惧, 从而使机体的儿茶酚胺分泌增加, 心跳加快, 血压升高, 可对体质较弱患者或高血压、冠心病患者引起虚脱或心脑血管意外发生^[4,5]。在短时间门诊无痛检查中我们常应用小剂量的麻醉药物如瑞芬太尼, 可减少全麻药物的剂量, 术后镇痛作用也较好, 但可能导致呼吸抑制, 应用于体质较弱的患者时风险较大。美国麻醉医师协会特别强调无痛肠镜检查中除需对 SPO_2 进行监测外, 还需监测通气功能, 特别是有其他严重慢性病的高危患者。操作中如BP、HR或 SPO_2 发生变化时, 应严密监视, 可暂停操作, 暂时不用药物干预, 托起患者下颌并降低麻醉药注射速度^[6-10]。

异丙酚有镇静和抗焦虑的作用, 起效快、不良反应小、可控性强, 但镇痛作用较差, 推注过快、剂量过大会对呼吸系统循环有一定的影响, 导致呼吸障碍。瑞芬太尼是目前临床上较常用的麻醉性镇痛药, 起效快, 静脉注射即可产生镇痛效果, 作用强且心血管状态稳定^[11-14]。与麻醉

药物联用, 可增强异丙酚的镇痛作用并改善麻醉效果, 减轻不良反应, 同时还可减少麻醉药物用量^[15,16]。布托啡诺是混合型阿片受体激动拮抗药, 具有镇痛效应强、苏醒时间短、胃肠道不良反应小、药物依赖性低等特点, 是良好的术后镇痛药物^[6]。因此, 本研究将瑞芬太尼与异丙酚合用作为对照组, 观察布托啡诺与异丙酚合用的临床效果。

本组资料表明观察组术后MAP、HR和 SPO_2 恢复情况较好, 与对照组比较差异有显著统计学意义($P < 0.05$), 表明观察组使用的麻醉药物对血压和呼吸系统的抑制较小; 相比对照组可明显减少患者的术后苏醒时间和疼痛VAS评分($P < 0.05$), 出现呼吸障碍、腹痛、头晕等不良反应的情况也少于对照组, 因此能更好地减轻患者痛苦, 提高肠镜检查术的满意率。

总之, 布托啡诺和异丙酚合用进行无痛肠镜检查镇痛效果较好, 可有效提高无痛肠镜术的安全性和有效性, 减少不良反应和并发症的发生, 适合临床推广使用。

4 参考文献

- 1 郑贵永, 周艳, 蔡鹭. 布托啡诺联合丙泊酚、戊二奎醚在胃镜检查中的应用. 海南医学院学报 2011; 5: 692-694
- 2 曹亚, 鲁卫华, 柳兆芳, 鲁美静. 布托啡诺、哌替啶与曲马多治疗围麻醉期患者寒战的效果. 中国临床药理学与治疗学 2012; 11: 1276-1278
- 3 Tagle M, Siu H, Ramos M. [Propofol in combination with meperidine and midazolam in colonoscopy and upper endoscopy: first prospective study in private practice in Peru]. Rev Gastroenterol Peru 2007; 27: 367-373 [PMID: 18183278]

- 4 Hirai S, Ogawa T, Shigeta Y, Ando E, Hirabayashi R, Ikawa T, Kasama S, Fukushima S, Matsuka Y. Characteristics of mandibular movements in patients with square mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: e75-e81 [PMID: 19836717 DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.07.008]
- 5 陈恭达, 夏瑞, 尹泓, 吴芳, 毛庆军, 李启飞. 不同剂量布托啡诺诱导对全麻患者脑电双频指数及气管插管反应的影响. *临床麻醉学杂志* 2010; 12: 1032-1033
- 6 徐德军, 张丽萍. 布托啡诺用于抑制腹腔镜胆囊切除术瑞芬太尼麻醉后痛觉过敏. *中国新药杂志* 2013; 02: 206-209, 229
- 7 Ben-Horin S, Bardan E, Barshack I, Zaks N, Livneh A. Cholesterol crystal embolization to the digestive system: characterization of a common, yet overlooked presentation of atheroembolism. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1471-1479 [PMID: 12873565 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07532.x]
- 8 黄骏, 吴小薇, 曾勇. 安定联合氟马西尼应用于无痛胃镜44例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 326-328
- 9 何忠明. 丙泊酚与米达唑仑在无痛胃镜时中心率、血压、氧饱和度的影响. *临床医学* 2008; 28: 74
- 10 黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲. 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 690-693
- 11 赵宏, 孙艺丹, 尹极峰. 丙泊酚用于无痛胃镜检查对认知功能的影响. *临床麻醉学杂志* 2007; 23: 282-283
- 12 徐富星, 季大年. 无痛消化内镜技术临床应用现状. *中国实用内镜杂志* 2005; 25: 221-222
- 13 Ranjan Dohil, Eric Hassall. Gastritis, gastropathy and ulcer disease. In: *Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease*. 3rd Edition. Philadelphia: Elsevier, 2006: 373-407 [DOI: 10.1016/B978-0-7216-3924-6.50029-9]
- 14 郭廷俊. 不同剂量芬太尼复合异丙酚麻醉用于胃镜检查术的效果比较. *重庆医学* 2009; 38: 2733-2734
- 15 Clarke AC, Chiragakis L, Hillman LC, Kaye GL. Sedation for endoscopy: the safe use of propofol by general practitioner sedationists. *Med J Aust* 2002; 176: 158-161 [PMID: 11913915]
- 16 李群, 吴新民, 蒋建渝. 靶控输注芬太尼对异丙酚的药动力学的影响. *中华麻醉学杂志* 2003; 23: 737-739

■同行评价

本文对基层医院的无痛内镜检查及手术开展有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

老年功能性便秘患者盆底表面肌电与临床症状的相关性

关丽嫦, 邓 罡, 徐丽姝

■背景资料

近年来生物反馈治疗被推荐为慢性便秘,特别是功能性排便障碍的一线治疗方案之一,但目前生物反馈治疗采用的疗效评估方法不一,疗效差异较大,部分患者检测指标改善但主观症状无改善甚至加重。为了更客观地评价生物反馈治疗的疗效,需要一个量化的并与主观症状指标密切相关的评估指标,以指导临床治疗。

关丽嫦, 邓罡, 徐丽姝, 广东省人民医院, 广东省医学科学院消化内科 广东省广州市 510080

关丽嫦, 主治医师, 主要从事功能性胃肠病的研究。

作者贡献分布: 此课题设计及研究过程由关丽嫦与邓罡共同完成; 数据分析及论文写作由关丽嫦完成; 徐丽姝指导及审阅文章。

通讯作者: 徐丽姝, 主任医师, 510080, 广东省广州市中山二路106号, 广东省人民医院消化科内科。xulishu70@163.com
电话: 020-83827812-70511

收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-06-10

接受日期: 2013-07-01 在线出版日期: 2013-07-18

Effect of biological feedback therapy on clinical symptoms and pelvic floor muscle surface electromyography in elderly patients with chronic functional constipation

Li-Chang Guan, Gang Deng, Li-Shu Xu

Li-Chang Guan, Gang Deng, Li-Shu Xu, Department of Gastroenterology, Guangdong General Hospital, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Correspondence to: Li-Shu Xu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guangdong General Hospital, 106 Zhongshan Er Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. xulishu70@163.com

Received: 2013-04-23 Revised: 2013-06-10

Accepted: 2013-07-01 Published online: 2013-07-18

Abstract

AIM: To observe the effect of biological feedback therapy on clinical symptoms and pelvic floor muscle surface electromyography (sEMG) parameters in elderly patients with chronic functional constipation, and to investigate the correlation between sEMG parameters and clinical symptom scores.

METHODS: Fifty-three patients (>60 years old) with chronic functional constipation received biological feedback therapy once daily for 20 d. Clinical symptom scores and parameters in the Glazer protocol of sEMG were evaluated before and after treatment.

RESULTS: Compared with pre-treatment value, clinical symptom score was improved significantly after treatment (10.90 ± 2.99 vs 5.65 ± 2.60 ,

$t = 10.46$, $P = 0.000$). The contractile amplitudes of phasic (24.87 ± 12.71 vs 32.82 ± 20.31 , $P = 0.009$), tonic (14.26 ± 8.63 vs 21.78 ± 10.44 , $P = 0.000$) and endurance contractions (9.52 ± 6.88 vs 13.62 ± 8.48 , $P = 0.005$) in the Glazer protocol of sEMG increased significantly, and the variability of tonic contraction (0.47 ± 0.14 vs 0.33 ± 0.18 , $P = 0.015$) decreased significantly 20 d after biological feedback therapy. There were close correlations among the amplitudes of phasic and tonic contractions, variability of tonic contraction in the Glazer protocol of sEMG and clinical symptom scores before and after the treatment (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Biological feedback therapy can effectively improve both clinical symptoms and sEMG parameters in elderly patients with chronic functional constipation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic functional constipation; Biological feedback; Clinical symptom; Surface electromyography; Pelvic floor

Guan LC, Deng G, Xu LS. Effect of biological feedback therapy on clinical symptoms and pelvic floor muscle surface electromyography in elderly patients with chronic functional constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 2000-2004 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2000.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.2000>

摘要

目的: 观察生物反馈治疗对老年慢性功能性便秘患者临床症状和盆底表面肌电的影响, 探讨Glazer盆底表面肌电评估与临床症状评分的相关性。

方法: 选择53例60岁以上老年慢性功能性便秘患者行生物反馈治疗2疗程, 治疗前后行临床症状评分及Glazer盆底表面肌电评估, 分析治疗前后临床症状及盆底表面肌电的改变, 对两者行相关性分析。

结果: 与治疗前相比, 治疗后便秘临床症状

■同行评议者

王道荣, 主任医师, 江苏省苏北人民医院胃肠外科

评分明显降低(10.90 ± 2.99 vs 5.65 ± 2.60 , $t = 10.46$, $P = 0.000$)差异有统计学意义, 治疗后Glazer盆底肌电评估中快速收缩阶段最大收缩波幅(24.87 ± 12.71 vs 32.82 ± 20.31 , $P = 0.009$)、持续收缩阶段收缩波幅(14.26 ± 8.63 vs 21.78 ± 10.44 , $P = 0.000$)、耐久收缩阶段收缩波幅(9.52 ± 6.88 vs 13.62 ± 8.48 , $P = 0.005$)均明显升高, 持续收缩阶段变异系数明显降低(0.47 ± 0.14 vs 0.33 ± 0.18 , $P = 0.015$), 差异有统计学意义; 治疗前后Glazer盆底肌电评估中快速收缩阶段最大收缩波幅、持续收缩阶段收缩波幅、持续收缩阶段变异性与临床症状评分均存在相关性($P < 0.05$)。

结论: 生物反馈治疗能改善老年功能性便秘患者临床症状和盆底表面肌电, 临床症状评分与Glazer盆底表面肌电评估均可作为生物反馈治疗老年慢性功能性便秘疗效的参考依据。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 慢性功能性便秘; 生物反馈; 临床症状; 表面肌电; 盆底

核心提示: 目前生物反馈治疗采用的疗效评估方法不一, 本研究发现老年人功能性便秘患者生物反馈治疗前后盆底表面肌电评估与临床症状评分存在明显相关, 推荐Glazer盆底表面肌电评估可作为生物反馈治疗老年慢性功能性便秘疗效的参考依据。

关丽嫦, 邓罡, 徐丽妹. 老年功能性便秘患者盆底表面肌电与临床症状的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(20): 2000-2004
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2000.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i20.2000>

0 引言

随着我国社会老龄化, 慢性便秘发病率逐渐增加, 慢性便秘给患者的身心以及经济都带来严重影响. 生物反馈治疗以其高疗效、无副作用的特点, 被推荐为慢性便秘, 特别是功能性排便障碍的一线治疗方案之一^[1], 但目前生物反馈治疗采用的疗效评估方法不一, 有临床症状、肛门直肠测压、肌电图评估等, 可导致治疗有效率评估差异. 本文比较生物反馈治疗对老年功能性便秘患者临床便秘症状评分和盆底表面肌电的影响, 旨在寻找一个量化并客观地评价生物反馈治疗疗效的评估方案, 可以指导临床治疗。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01/2012-06我院门诊及住院

慢性便秘患者53例. 男35例, 女18例, 年龄62-89岁, 平均 76.25 ± 12.75 岁. 病程最长30年, 最短1年. 纳入标准: 年龄60岁以上; 符合罗马III慢性功能性便秘诊断标准: (1)症状必须包括以下2项或2项以上: 至少25%的排便感到费力; 至少25%的排便为干球状便或硬便; 至少25%的排便有不尽感; 至少25%的排便有肛门直肠梗阻感或阻塞感; 至少25%的排便需要手法帮助; 每周排便次数 <3 次. 在不使用泻药时很少出现稀便; 没有足够的证据诊断肠易激综合征. 诊断之前症状出现至少6 mo, 且近3 mo症状符合以上诊断标准; 经电子肠镜检查排除结直肠器质性疾病; 已行改善饮食增加活动等一般治疗无效. 排除标准: (1)全身性疾病、药物性因素所致继发性便秘; (2)严重心律失常, 装有心脏起搏器; (3)不能配合治疗者。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 生物反馈治疗采用南京伟思公司生产的新一代Myotrac生物刺激仪, 带Glazer盆底肌电评估方案^[2], 触发电刺激生物反馈方案及凯格尔训练: 采取短期强化治疗方案, 1次/d, 30 min/次, 5次/wk, 10 d为1个疗程, 连续做2个疗程. 治疗前及治疗2个疗程后均行Glazer盆底表面肌电评估. 治疗前向患者讲解正常的排便机制, 说明生物反馈治疗的方法, 指导患者掌握如何根据肌电变化来调整排便动作, 学习如何放松盆底肌, 需经反复训练建立条件反射来实现. 治疗期间回家后继续练习同样的动作, 每次15 min, 2-3次/d。

1.2.2 疗效评估方法: 临床疗效评估方法: 采用2005年中华医学会外科学分会肛肠外科学组编制的“便秘症状及疗效评估问卷”^[3], 该问卷共分6方面问题: (1)排便困难; (2)粪便性状; (3)排便时间; (4)下坠、不尽、胀感; (5)排便频度; (6)腹胀. 每个问题评分均为4级标准, 根据不同程度分别记0-3分, 得分越高代表该问题症状越重, 6方面问题得分相加为便秘症状总分. 评估时间分别在治疗开始前、治疗后第4周。

盆底表面肌电评估方法 采用Glazer盆底肌电评估方案. 检查共分5个阶段进行, 包括: (1)前基线: 安静状态下进行60 s基线记录, 测试肌电波幅、变异系数; (2)快速收缩阶段: 5次快速收缩(每次收缩前休息10 s), 记录最大收缩波幅、收缩反应时间; (3)持续收缩阶段: 5次持续收缩和放松(收缩10 s、放松10 s), 记录平均收缩波幅、变异性、中值频率; (4)耐受测试: 连续60 s

■研究前沿

生物反馈作为一种新兴行为疗法, 被推荐慢性功能性排便障碍的首选治疗, 但对慢传输型便秘疗效仍有争议. Glazer盆底肌表面肌电评估方案在国外已广泛应用于盆底肌性功能、括约功能和支持功能的测定, 近年来在国内开始应用于生物反馈治疗的疗效评估. 目前尚缺乏我国各特定人群盆底肌电的参考值范围。

■相关报道

我国丁曙晴等发现盆底表面肌电能较好地评估盆底失弛缓患者与功能性肛门直肠痛患者盆底肌功能. 丛芳等也发现盆底表面肌电检测值与SCI肠功能问卷调查5项指标、SCI残损分级之间存在明显相关性。

■创新亮点

本研究基于我国老年便秘患者这一特定人群,分析生物反馈治疗前后Glazer盆底表面肌电评估与临床症状评分的相关性,同时初步获得我国老年便秘患者盆底肌电值,为我国人群盆底肌电标准数据库的建立提供临床数据。

表 1 治疗前后盆底表面肌电值变化 ($n = 53$)

检测阶段	检测指标	治疗前	治疗后	值	P值
前基线	波幅(μV)	2.50 ± 1.84	2.36 ± 1.73	0.432	0.670
	变异系数	0.31 ± 0.37	0.25 ± 0.23	0.722	0.479
快速收缩	收缩反应时间	2.15 ± 0.69	2.13 ± 0.28	0.146	0.886
	最大收缩波幅	24.87 ± 12.71	32.82 ± 20.31	2.897	0.009
持续收缩	收缩波幅(μV)	14.26 ± 8.63	21.78 ± 10.44	5.489	0.000
	变异系数	0.47 ± 0.14	0.33 ± 0.18	2.665	0.015
耐久收缩	中值频率(Hz)	97.39 ± 16.62	97.87 ± 15.45	0.142	0.888
	收缩波幅(μV)	9.52 ± 6.88	13.62 ± 8.48	3.213	0.005
	变异系数	0.40 ± 0.23	0.32 ± 0.18	1.758	0.095
后基线	中值频率(Hz)	100.70 ± 20.27	104.55 ± 26.33	0.864	0.398
	波幅(μV)	3.22 ± 3.24	2.78 ± 2.54	0.962	0.348
	变异系数	0.33 ± 0.40	0.24 ± 0.29	0.864	0.398

表 2 我国老年便秘患者与国外Glazer数据库盆底表面肌电的正常值比较

检测阶段	检测指标	我国老年便秘患者	国外正常值
前基线	波幅(μV)	2.50 ± 1.84	<4
	变异系数	0.31 ± 0.37	<0.2
快速收缩	最大收缩波幅	24.87 ± 12.71	>70
持续收缩	收缩波幅(μV)	14.26 ± 8.63	>40
	变异系数	0.47 ± 0.14	<0.2
耐久收缩	收缩波幅(μV)	9.52 ± 6.88	>25
	变异系数	0.40 ± 0.23	<0.2
后基线	波幅(μV)	3.22 ± 3.24	<4
	变异系数	0.33 ± 0.40	<0.2

收缩(收缩前后都放松10 s),记录平均收缩波幅、变异性、中值频率;(5)后基线:休息状态下进行60 s基线记录,记录肌电波幅、变异性。评估时间分别在治疗开始前、治疗后第4周。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行数据录入及统计分析,计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用配对 t 检验,相关性分析采用Pearson相关分析方法, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效评估结果 治疗前后便秘症状总分各为 10.90 ± 2.99 分和 5.65 ± 2.60 分,与治疗前相比,治疗后便秘临床症状评分明显降低($t = 10.46, P = 0.000$),差异有统计学意义($P < 0.05$)。生物反馈治疗过程中未发生明显不良反应。

2.2 盆底表面肌电评估结果 与治疗前相比,治疗后Glazer盆底肌电评估中快速收缩阶段最大收缩波幅、持续收缩阶段收缩波幅、耐久收缩阶段收缩波幅均明显升高,持续收缩阶段变异系数明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表1);治疗

前后Glazer盆底肌电评估中快速收缩阶段最大收缩波幅、持续收缩阶段收缩波幅与便秘症状评分均存在负相关($P < 0.05$),持续收缩阶段变异性与便秘症状评分存在正相关性($P < 0.05$,表2,3)。

3 讨论

生物反馈训练是将近代心理学、精神生理学与物理医学有机结合起来,利用专门的电生理仪器将与生理活动有关的体内的某些生物学信息加以放大处理,并通过视觉或听觉的方式显示出来。患者通过对这些信息的认识,有意识地调节和控制自身的生理活动,经过反复训练,形成生物反馈通路,通过大脑皮质、下丘脑产生神经体液变化,调整生理反应,纠正偏离正常范围的生理活动,达到治疗疾病的目的^[4]。生物反馈训练对盆底肌肉功能的恢复的具有重要意义,已成为目前治疗慢性便秘,特别是功能性排便障碍的一线疗法^[1]。中国慢性便秘的诊治指南(2007,扬州)生物反馈治疗也被推荐用于功能性排便障碍。美国应用精神生理学和生物反馈协

■应用要点

Glazer盆底表面肌电评估方案作为一种非侵入性、便捷、实时、定量的检测方法,能够指导盆底生物反馈方案的实施及监测治疗效果。

表 3 治疗前后便秘症状总分与盆底表面肌电值的相关系数 r 及 P 值($n = 53$)

检测阶段	检测指标	治疗前		治疗后	
		值	P 值	值	P 值
前基线	波幅(μV)	-0.238	0.313	-0.229	0.332
	变异系数	0.055	0.833	0.243	0.301
快速收缩	收缩反应时间	0.275	0.241	0.448	0.057
	最大收缩波幅	-0.530	0.046	-0.472	0.049
持续收缩	收缩波幅(μV)	-0.660	0.034	-0.497	0.024
	变异系数	0.381	0.016	0.392	0.027
	中值频率(Hz)	0.022	0.928	0.101	0.672
耐久收缩	收缩波幅(μV)	-0.242	0.867	-0.095	0.691
	变异系数	0.134	0.075	0.005	0.149
	中值频率(Hz)	0.077	0.748	0.159	0.503
后基线	波幅(μV)	-0.216	0.360	-0.102	0.668
	变异系数	0.031	0.305	0.057	0.812

■名词解释

盆底肌纤维: 盆底肌肉含有两种肌纤维, I型肌纤维为需氧慢反应型肌, 耐疲劳, 可以长时间保持张力, 盆底肌大约2/3是慢反应型肌, 主要起支持作用; II型肌纤维为厌氧快反应型肌, 不耐疲劳, 可快而有力收缩, 主要完成性功能。两种肌纤维混合有括约股肌的功能。

会(Association for applied psychophysiology and biofeedback, AAPB)根据盆底生物反馈与常规治疗系统评价, 慢性便秘的有效率为62.4%^[4]。但从近10年影响因子较高的临床研究资料发现, 生物反馈对慢性便秘的疗效差异较大(8%-93%)^[5], 并有研究^[6]发现部分患者肛门直肠检测指标改善但主观症状无改善甚至可能表现为症状加重。刘芳宜等^[5]认为疗效差异与治疗方案、疗效判断指标等有关。为了更客观地评价生物反馈治疗的疗效, 需要一个客观的量化的并与主观症状指标密切相关的评估指标。本文尝试采用Glazer盆底评估方案来评价盆底生物反馈治疗效果。

Glazer盆底评估法是生理学教授Glazer^[2]于2004年提出, 并根据大量检测结果建立了标准数据库, 提出了各项指标的外国人的正常参考值。他为盆底肌肉活动的测量提供了一种固定的秩序, 也为正常人及伴有盆底肌肉功能障碍的人提供了一种描述表面肌电的数据库。Glazer盆底表面肌电评估方案主要检测前基线静息波幅、变异系数, 了解安静状况下盆底肌肉的变动情况; 5次快速收缩阶段起始时间、最大波幅, 评估快速反应的速度, 分析快速活动肌纤维的功能; 5次持续收缩阶段平均波幅、变异系数、中值频率, 帮助判断快肌及慢肌的纤维的功能; 60 s耐久收缩阶段平均波幅、变异系数、中值频率, 帮助确定参与持久性收缩的肌纤维的类型; 后基线平均波幅、变异系数、中值频率, 评估在一系列的收缩后, 休息时肌电的幅度和变化性。收缩波幅的大小反映肌肉信号强度, 与肌肉强力及肌张力呈正相关^[7]。收缩波幅的不同代表参与收缩的肌纤维的数量不同, 快速收缩时

主要与快型肌纤维所占的比例呈正相关, 保持收缩和耐久收缩时同时需要慢型肌的募集^[8]。变异性反映了肌肉运动的稳定性, 他与盆底快慢两型肌肉运动是否协调有关。Glazer等^[9]发现仅有收缩状态波幅升高或静息状态波幅下降但变异性无降低的患者几乎无效, 故认为表面肌电测量时静息和收缩状态肌肉的稳定性是决定治疗效果的关键因素, 在采用表面肌电评估盆底肌功能时, 静息波幅和肌肉稳定性比收缩波幅更可靠、合理。

Glazer盆底肌表面肌电评估方案通过一组标准化的盆底肌表面肌电的程序性测试了解盆底肌整体的收缩、放松功能, 了解盆底功能的恢复进展及评价治疗效果等, 为非创伤性操作, 重复性好, 为临床研究和基础研究提供了一种无创、动态、实时的评估方法, 在国外已广泛应用于盆底肌性功能、括约功能和支持功能的测定^[10-12]。但本国资料仍不多, 我国薛雅红等与丁曙晴等^[13,14]采用Glazer盆底表面肌电评估方案研究盆底表面肌电时发现随着年龄增加, 快速收缩时收缩反应时间延长, 持续收缩时收缩波幅下降、变异系数耐久收缩时变异系数升高。与正常人群相比, 盆底失弛缓患者的盆底表面肌电值存在明显差异, 盆底表面肌电值持续收缩和耐久收缩阶段的变异性与年龄呈正相关; 盆底表面肌电能较好地评估盆底失弛缓患者与功能性肛门直肠痛患者盆底肌功能。丛芳等^[15]在对不同损伤程度的脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)患者的肛门括约肌进行Glazer盆底肌表面肌电评估时也发现Glazer评估中各个收缩阶段的盆底表面肌电检测值与SCI肠功能问卷调查5

■同行评价

本研究探讨老年人功能性便秘患者生物反馈治疗前后盆底表面肌电与临床症状评分的相关性,选题较新颖,有一定的学术价值。

项指标、SCI残损分级之间存在明显相关性。

本研究利用Glazer盆底评估方案对53例老年功能性便秘患者进行生物反馈治疗前后盆底肌表面肌电检测,发现与Glazer盆底肌表面肌电检测数据库的正常值相比较,本研究组患者治疗前表现为各收缩阶段波幅低,变异系数升高,提示老年功能性便秘患者盆底快型肌纤维与慢型肌纤维功能下降,募集异常,稳定性差,可能存在盆底肌肉松弛或直肠推进力不足,但未排除人种差异,目前尚缺乏我国各特定人群盆底肌电的参考值范围。行2疗程生物反馈治疗后,随着Glazer盆底肌电评估中各阶段收缩波幅均明显升高,持续收缩阶段变异系数明显降低,便秘症状评分相应的改善,相关性分析发现治疗前后Glazer盆底肌电评估中各收缩阶段收缩波幅与便秘症状评分均为负相关,持续收缩阶段变异性与便秘症状评分为正相关性,提示便秘症状好转在盆底肌电评估的表现收缩波幅升高和变异性降低,与国内外研究相符。本研究前后基线静息波幅及变异性治疗前后比较数值均有下降,但无统计学差异,原因可能为:(1)前后基线静息波幅及变异性的改善可能较收缩阶段的改善慢,本研究观察时间不够长;(2)本研究未能行功能性便秘分型;(3)本研究病例数有限,在研究对象选取上存在一定的偏倚,便秘患者有多种病因,未能进一步分类研究及增加远期疗效,需有待今后多中心扩大样本量延长观察时间来进一步研究。

总之,生物反馈治疗能改善老年功能性便秘患者临床症状和盆底表面肌电,临床症状评分与Glazer盆底表面肌电评估均可作为生物反馈治疗老年慢性功能性便秘疗效的参考依据。

4 参考文献

1 Storrie JB. Biofeedback: a first-line treatment for

idiopathic constipation. *Br J Nurs* 1997; 6: 152-158 [PMID: 9104120]

2 Glazer HI. Biofeedback vs electrophysiology. *Rehab Manag* 2005; 18: 32-34 [PMID: 16274115]

3 中华医学会外科学分会肛肠外科学组. 便秘症状及疗效评估. *中华胃肠外科杂志* 2005; 8: 355-356

4 Heymen S, Jones KR, Scarlett Y, Whitehead WE. Biofeedback treatment of constipation: a critical review. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1208-1217 [PMID: 12972965 DOI: 10.1007/s10350-004-6717-8]

5 刘芳宜, 方秀才, 王智凤. 生物反馈治疗慢性便秘的疗效评价. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 874-877

6 Wiesel PH, Dorta G, Cuypers P, Herranz M, Kreis ME, Schnegg JF, Jornod P. Patient satisfaction after biofeedback for constipation and pelvic floor dys-synergia. *Swiss Med Wkly* 2001; 131: 152-156 [PMID: 11416888]

7 蔚二文, 陈维毅. 表面肌电图在肌肉功能评估中的应用. *大众科技* 2007; 20: 120-122

8 余洪俊. 表面肌电图评价肌肉的功能状况. *中国临床康复* 2002; 6: 3514-3515

9 Glazer HI, Rodke G, Swencionis C, Hertz R, Young AW. Treatment of vulvar vestibulitis syndrome with electromyographic biofeedback of pelvic floor musculature. *J Reprod Med* 1995; 40: 283-290 [PMID: 7623358]

10 Glazer HI, Marinoff SC, Sleight IJ. Web-enabled Glazer surface electromyographic protocol for the remote, real-time assessment and rehabilitation of pelvic floor dysfunction in vulvar vestibulitis syndrome. A case report. *J Reprod Med* 2002; 47: 728-730 [PMID: 12380455]

11 Hetrick DC, Glazer H, Liu YW, Turner JA, Frest M, Berger RE. Pelvic floor electromyography in men with chronic pelvic pain syndrome: a case-control study. *Neurourol Urodyn* 2006; 25: 46-49 [PMID: 16167354 DOI: 10.1002/nau.20162]

12 Brown CS, Glazer HI, Vogt V, Menkes D, Bachmann G. Subjective and objective outcomes of botulinum toxin type A treatment in vestibulodynia: pilot data. *J Reprod Med* 2006; 51: 635-641 [PMID: 16967634]

13 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 张勇, 曾宪东, 钱雄杰, 刘峰, 王静. 无症状人群盆底表面肌电的研究及其临床意义. *临床外科杂志* 2012; 20: 697-699

14 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 张勇, 曾宪东, 钱雄杰, 刘峰, 王静. 盆底失弛缓综合征患者盆底表面肌电的改变及临床意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1025-1029

15 丛芳, 李建军, 周红俊, 吴琼, 林歆, 郑樱, 金龙. Glazer盆底表面肌电评估方案在脊髓损伤患者中的应用. *中华物理医学与康复杂志* 2012; 34: 201

编辑 田滢 电编 闫晋利



溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化1例

宋淑然

宋淑然, 河北医科大学第二医院检验科 河北省石家庄市 050000

宋淑然, 主要从事自身免疫性疾病的检验与临床工作。

作者贡献分布: 本文由宋淑然独立完成。

通讯作者: 宋淑然, 主管检验师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院检验科. song.shuran@163.com

收稿日期: 2013-04-11 修回日期: 2013-05-14

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-18

Ulcerative colitis with primary biliary cirrhosis: A case report

Shu-Ran Song

Shu-Ran Song, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 500000, Hebei Province, China
Correspondence to: Shu-Ran Song, Competent Surveyor, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 500000, Hebei Province, China. song.shuran@163.com

Received: 2013-04-11 Revised: 2013-05-14

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-18

Abstract

We report a case of ulcerative colitis with primary biliary cirrhosis in a 61-year-old woman, who presented with a history of intermittent diarrhea and bloody purulent stools for 33 years, and anorexia and fatigue for six months. Treatment consisting of mesalazine, ursodeoxycholic acid and glucocorticoids led to illness remission. We also reviewed the relevant literature to discuss the extraintestinal manifestations of ulcerative colitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Primary biliary cirrhosis

Song SR. Ulcerative colitis with primary biliary cirrhosis: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(20): 2005-2008 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2005.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.2005>

摘要

本文报道了1例61岁女性患者, 主因“间断腹泻33年, 食欲不振、乏力半年”住院, 诊断为溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化, 经过

应用美沙拉嗪、熊去氧胆酸和糖皮质激素等治疗后病情缓解, 并回顾文献资料, 复习了溃疡性结肠炎的肠外表现特点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 原发性胆汁性肝硬化

核心提示: 本文报告了1例61岁女性的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)并发原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis)患者, 经应用美沙拉嗪和熊去氧胆酸等治疗后病情逐渐缓解。为少见病例报告, 资料齐全, 附有结肠镜、胃镜、CT和病理学图片资料, 并结合国内外文献资料进行了讨论, 对提高本病的认识具有一定临床价值。

宋淑然. 溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(20): 2005-2008 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2005.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i20.2005>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种与肠道黏膜免疫异常有关的直肠和结肠慢性非特异性炎症性疾病, 可伴有多种肠外表现, 常见的有外周关节炎、结节性红斑、眼葡萄膜炎、口腔复发性溃疡等。肝胆系统也可受累, 如原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cirrhosis, PSC)、自身免疫性肝炎(autoimmune hepatic, AIH)等。本文报道了1例溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)患者, 临床少见。

1 病例资料

女, 61岁, 主因间断腹泻33年, 食欲不振、乏力半年入院。患者33年前无明显诱因出现腹泻, 4-8次/d, 偶有黏液及脓血便, 无发热、腹痛等不适, 行结肠镜检查诊断为“溃疡性结肠炎”, 给予锡类散灌肠及口服中药治疗, 症状缓解, 后间断出现黏液脓血便, 时轻时重, 应用上述治疗后症状好转。半年前出现反酸、食欲不振、腹胀、全身乏力, 来我院行上消化道造影显示食管中下段静脉曲张, 上腹CT提示肝硬化, 口服双环醇保肝

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease), 可有多种肠外表现, 如关节、眼、皮肤等部位, 肝胆方面可有原发性硬化性胆管炎、自身免疫性肝炎等, 并发原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)者临床上少见。

■同行评议者

廖应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

■相关报道

临床上UC和原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)合并出现时,有时很难确定谁是原发病谁是并发症,文献多为PBC发病在前,UC发病在后的报告,而UC发病在前,PBC发病在后的报道少见。

治疗。2 mo前无明显诱因再次出现黏液脓血便, 7-8次/d,有腹痛-便意-便后缓解规律,给予锡类散灌肠及口服中药后,症状无缓解。患者体质量较半年前减少约15 kg。无肝炎病史,对安痛定过敏,无外伤、手术、输血史。

查体: T 37.0 °C, P 84次/min, R 21次/min, BP 118/70 mmHg,发育正常,营养中等,轻度贫血貌,全身皮肤黏膜无黄染、瘀斑及出血点,无肝掌、蜘蛛痣,周身浅表淋巴结未触及肿大,结膜苍白,巩膜黄染。两肺呼吸音清,未闻及干湿性罗音。心律规整,各瓣膜听诊区未闻及杂音。腹部平坦,无腹壁静脉曲张,腹软,无压痛、反跳痛,肝脾肋下未触及,移动性浊音阴性,肠鸣音正常存在。脊柱四肢无畸形,活动自如,关节无红肿,双下肢无水肿。

住院后辅助检查:血常规: WBC $7.9 \times 10^9/L$,中性粒细胞69.8%,淋巴21.4%,单核7.6%, HGB 50 g/L, PLT $238 \times 10^9/L$ 。大便常规:红细胞、白细胞满视野,潜血(+++),大便细菌培养无致病菌生长。血沉51 mm/h,凝血常规:血浆凝血酶原时间15.2 s,前白蛋白(prealbumin, PA)79%,活化凝血活酶时间26.8 s,血浆纤维蛋白原1.82 g/L,国际标准化比率1.16,凝血酶时间17.5 s。肝功能:总胆红素(total bilirubin, TBIL)57.34 $\mu\text{mol/L}$,白蛋白(albumin, ALB)26.8 g/L, G 43.8 g/L, A/G 0.61, PA 0.05 g/L,谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)35.0 U/L,谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)75.0 U/L,碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)197.0 U/L,谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase, GGT)159.0 U/L,胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)2456 U/L,总胆汁酸(total bile acid, TBA)11.1 $\mu\text{mol/L}$ 。血清甲、乙、丙、戊肝病标志物阴性。抗人球蛋白试验阴性。免疫球蛋白IgG 18.6 g/L, IgA 7.81 g/L, IgM 3.52 g/L,补体C3 0.67 g/L,补体C4 0.154 g/L。CRP 18.3 mg/L,铜蓝蛋白0.50 g/L(-)。自身抗体测定:抗核抗体(antinuclear antibodies, ANA)-IgG 1:1280(+),抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies, AMA)1:1280(+),抗线粒体抗体IgG型(M2亚型)>800 RU/mL(正常<25 RU/mL),抗双链DNA抗体、抗可溶性肝抗原抗体、抗平滑肌抗体、抗胃壁细胞抗体、抗肝肾微粒体抗体、抗心肌抗体、抗着丝点抗体均阴性。抗核抗体谱:抗Sm抗体、抗RNP抗体、抗SSA抗体、抗SSB抗体、抗Scl-70抗体、抗Jo-1抗体和抗rRNP抗体均阴性。结肠镜检查:回肠末端可见散在溃

疡及隆起糜烂灶。盲肠黏膜弥漫性充血水肿,糜烂、溃疡,黏膜粗糙颗粒样不平,表面附黏液和脓苔。升、横、降和乙状结肠各肠段结肠袋消失,黏膜弥漫性充血水肿,可见弥漫性糜烂灶和浅表溃疡,表面覆白苔,血管纹理消失,肠腔无狭窄,病变以升结肠为主。直肠黏膜充血水肿,可见点片状红斑及糜烂灶,血管纹理不清晰(图1A, B)。结肠活检病理:回肠末端黏膜慢性炎症,升结肠黏膜慢性炎症,表浅溃疡形成(图1C)。胃镜检查:重度食管静脉曲张,门脉高压性胃病(图1D)。上腹部CT:肝硬化,腹水,脾大,慢性胆囊炎(图1E, F)。诊断为溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化。

治疗情况:患者入院后加强支持治疗,输血、冰冻血浆,口服美沙拉嗪(1.0 g, 4次/d)、熊去氧胆酸胶囊(0.25 g, 3次/d)以及应用还原型谷胱甘肽、异甘草酸镁保肝治疗。同时给予注射用甲泼尼龙琥珀酸钠静脉点滴(40 mg/d)半月,后改为醋酸泼尼松片口服(40 mg/d)半月,患者腹泻症状改善,大便1-2次/d,脓血便消失,食欲改善。复查肝功能好转, TBIL 38.40 $\mu\text{mol/L}$, ALT 93.0 U/L, AST 80.0 U/L, ALB 30.7 g/L, G 32.2 g/L, A/G 0.95, PA 0.13 g/L, ALP 47.0 U/L, GGT 192.0 U/L,胆碱酯酶CHE 3119 U/L, TBA 35.9 $\mu\text{mol/L}$,患者住院1 mo后出院。患者出院后继续服用美沙拉嗪和熊去氧胆酸胶囊维持治疗,醋酸泼尼松片逐渐减量,目前以维持5 mg/d,经随访3 mo,患者病情稳定,食欲良好,无腹泻、腹痛、脓血便,能从事一般日常活动。

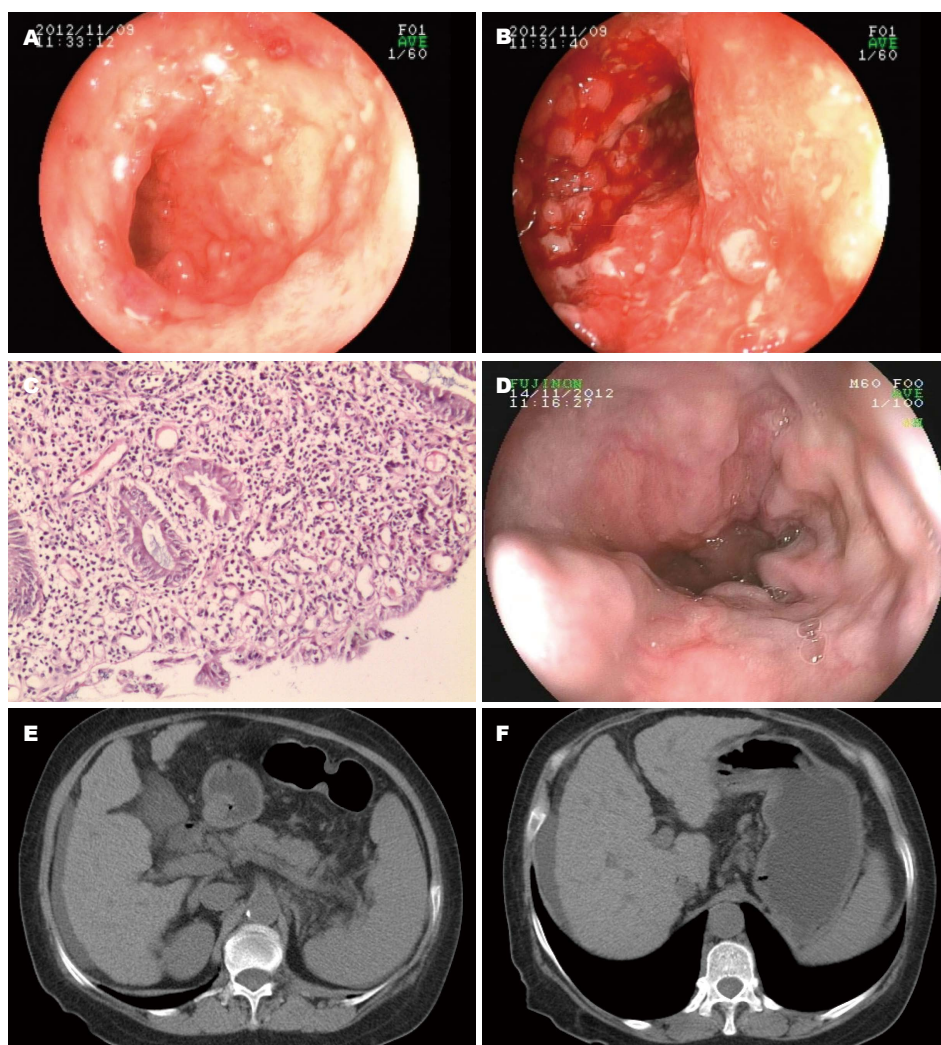
2 讨论

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括UC和克罗恩病(Crohn's disease, CD), IBD具有各种各样的肠外表现(extraintestinal manifestations, EIMs),这些肠外表现可能比基础的肠道疾病有更多的发病率,甚至可能是IBD的首发表现。对于IBD有报道约36%患者至少有一个以上肠外表现^[1]。常见肠外表现包括关节、眼、皮肤等部位,如关节炎、色素膜炎、口腔溃疡和溶血性贫血等。而肝胆系统表现,可有原发性硬化性胆管炎、自身免疫性肝炎和重叠综合征等^[2]。IBD患者并发PBC则相对少见。

在IBD基础上出现肝胆疾病,可能存在以下发病机制:(1)与IBD有着共存的免疫学异常,包括PSC、小导管PSC/胆管周围炎、PSC/自身免疫性肝炎重叠;(2)与IBD结构和生理改变相平行,可能由于严重肠道疾病的慢性炎症而引起,

■创新盘点

本文UC合并PBC为少见病例报告,诊断上符合相关疾病的诊断标准,资料齐全、完整,附有结肠镜、胃镜、CT和病理学图片资料,并结合国内外的文献资料进行了复习和讨论。



■应用要点

UC合并PBC临床少见,提示当UC患者出现ALP、GGT和/或BIL升高,胆汁淤积表现时,应考虑到合并PBC的可能,进行血清AMA抗体测定,以确定PBC的诊断。

图1 溃疡性结肠炎并发原发性胆汁性肝硬化患者的辅助检查。A, B: 结肠镜检查: 结肠黏膜充血水肿, 可见弥漫性糜烂灶、浅表溃疡和出血; C: 病理学检查: 升结肠黏膜慢性炎症, 表浅溃疡形成; D: 胃镜检查: 食管静脉曲张(重度); E, F: 腹部CT检查: 肝硬化、腹水、脾大。

如胆石症、门静脉血栓形成和肝脓肿等; (3)与IBD药物治疗的不良反应有关, 包括药物性肝炎或肝硬化(如甲氨蝶呤), 乙型肝炎再激活, 肝脾淋巴瘤再激活等^[3]。

UC患者并发PBC少见, 而且很难确定PBC是原发病还是并发症, 文献多为PBC发病在前, UC发病在后, 但也有UC发病在前, 而PBC发病在后的报道^[4-6]。本例患者根据33年前间断腹泻、腹痛和脓血便等临床表现, 结肠镜检查有充血水肿、糜烂、溃疡和出血等表现, 大便细菌培养无致病菌生长等符合UC诊断标准^[7]。近半年出现食欲不振、腹胀表现, 具有胆汁淤积的生化指标, 血清碱性磷酸酶升高, 抗线粒体抗体阳性, 抗线粒体抗体(M2亚型)阳性, 并存在食管静脉曲张, 肝硬化CT影像学特征, 符合PBC诊断标准^[8]。因此, 本例患者UC发病在前, PBC发病在后, 是在UC基础上并发PBC, 其发生

机制不明, 可能与共存的免疫发病机制异常有关^[9,10]。在治疗上, UC和PBC各有一定的特殊性, 前者以氨基水杨酸类药物、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂和单克隆抗肿瘤坏死因子抗体为主的治疗。而PBC的治疗以熊去氧胆酸(ursodesoxycholic acid, UDCA)为主, UDCA也是国内外PBC诊治指南中推荐的唯一药物^[11-13]。本例患者原发病是UC, 而且病变广泛, 呈全结肠型、活动期、重度, 因此在治疗上首先选用5-氨基水杨酸-美沙拉嗪和肾上腺皮质激素, 而针对PBC的治疗则加用UDCA, 经过联合治疗后病情逐渐缓解, 由于UC容易复发, 需要应用美沙拉嗪维持治疗, 而PBC已经发展为门脉高压症, 需要长期应用UDCA, 应加强随访, 做好病情的评估。

UC合并PBC临床少见, UC患者可有多种肠外表现, 包括肝胆系统受累, 当在UC患者出现ALP、GGT和/或BIL升高, 胆汁淤积表现时, 应

■同行评价

国内较少关于UC并发PBC的报道,文章所叙述的本例临床特点在国内具有一定新颖性、可读性。

考虑到UC并发PBC的可能,进行血清AMA抗体和/或AMA-M2抗体测定,以确定PBC的诊断。在治疗上,应同时应用5-氨基水杨酸和UDCA治疗,注意维持用药,以防疾病复发。

3 参考文献

- 1 Ardizzone S, Puttini PS, Cassinotti A, Porro GB. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: S253-S259 [PMID: 18598997 DOI: 10.1016/S1590-8658(08)60534-4]
- 2 Knight C, Murray KF. Hepatobiliary associations with inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 3: 681-691 [PMID: 19929587 DOI: 10.1586/egh.09.53]
- 3 Navaneethan U, Shen B. Hepatopancreatobiliary manifestations and complications associated with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1598-1619 [PMID: 20198712 DOI: 10.1002/ibd.21219]
- 4 Tada F, Abe M, Nunoi H, Azemoto N, Mashiba T, Furukawa S, Kumagi T, Murakami H, Ikeda Y, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Ulcerative colitis complicated with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 2011; 50: 2323-2327 [PMID: 22001458]
- 5 Arai O, Ikeda H, Mouri H, Notohara K, Matsueda K. Two cases of inflammatory bowel disease diagnosed in the course of primary biliary cirrhosis.

Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi 2010; 107: 900-908 [PMID: 20530926]

- 6 肖文斌, 王智峰, 刘玉兰. 原发性胆汁性肝硬化合并溃疡性结肠炎一例. *中华内科杂志* 2002; 41: 200
- 7 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年•广州) *中华内科杂志* 2012; 51: 818-831
- 8 Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291-308 [PMID: 19554543 DOI: 10.1002/hep.22906]
- 9 Venkatesh PG, Navaneethan U, Shen B. Hepatobiliary disorders and complications of inflammatory bowel disease. *J Dig Dis* 2011; 12: 245-256 [PMID: 21791019 DOI: 10.1111/j.1751-2980]
- 10 Uko V, Thangada S, Radhakrishnan K. Liver disorders in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 642923 [PMID: 22474447 DOI: 10.1155/2012/642923]
- 11 中华医学会风湿病学分会. 自身免疫性肝病诊断和治疗指南. *中华风湿病学杂志* 2011; 15: 556-558
- 12 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267 [PMID: 19501929 DOI: 10.1016/j.jhep]
- 13 Gleeson D, Heneghan MA. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *Gut* 2011; 60: 1611-1629 [PMID: 21757447 DOI: 10.1136/gut.2010.235259]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

邵先玉 教授
泰山医学院附属医院消化内科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

高国全 教授
中山大学中山医学院生物化学教研室

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

黄缘 教授
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

张伟辉 主任医师
哈尔滨医科大学一院微创胆道外科

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



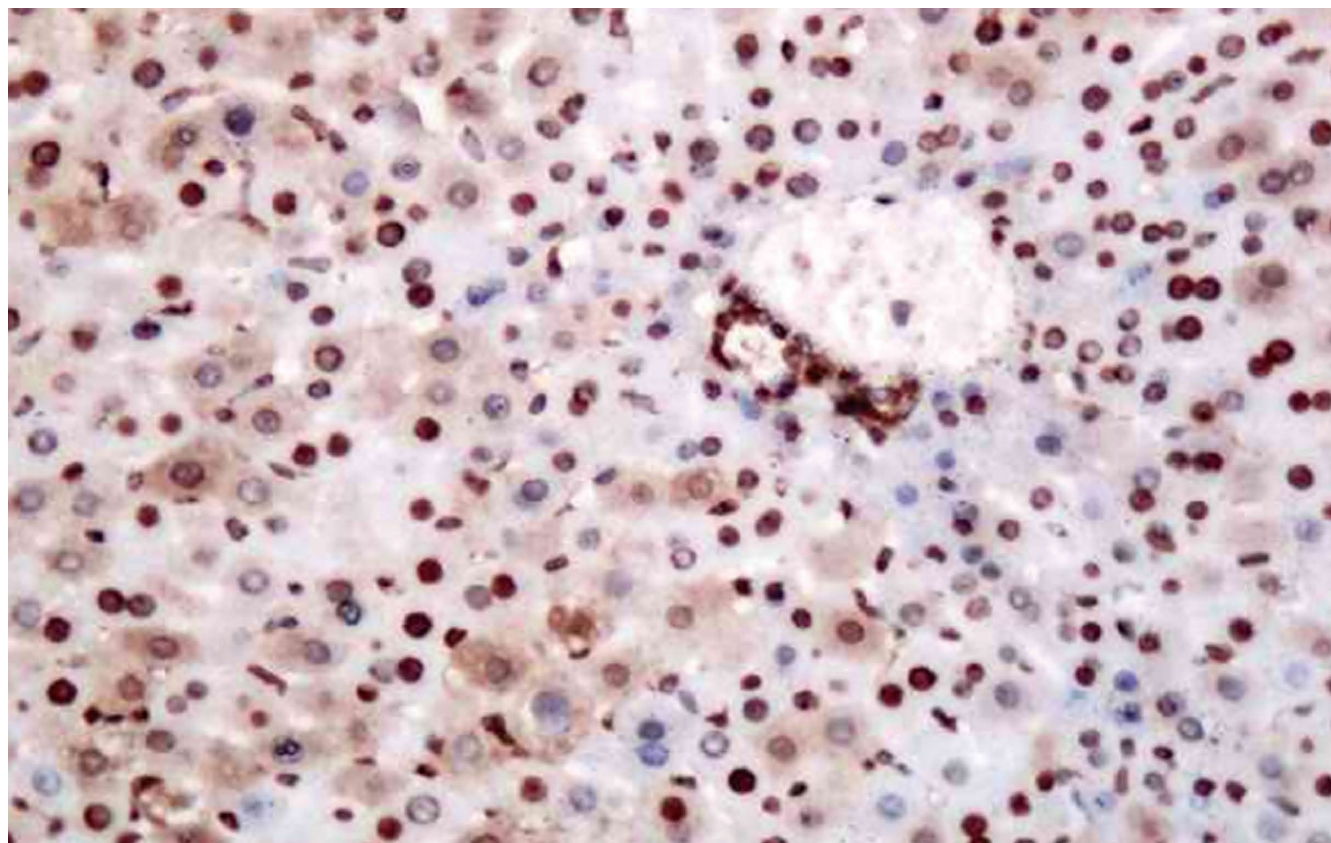
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 7 月 28 日 第 21 卷 第 21 期 (Volume 21 Number 21)



21 / 2013

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年7月28日 第21卷 第21期 (总第425期)

基础研究

- 2009 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位
雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群
- 2016 pHbX-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞中的表达
李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董棚, 陈穆, 李孟森

临床研究

- 2023 胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例
薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅
- 2031 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义
陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍
- 2038 RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性
吴军卫, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群

文献综述

- 2045 中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展
莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利
- 2051 JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展
王建强, 黄缘
- 2057 促凋亡基因PUMA与肿瘤
彭松林, 戴朝六

研究快报

- 2063 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响
陈逸民, 叶玲, 冷爱民, 刘震
- 2070 LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化
李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢

临床经验

- 2076 降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效
陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里
- 2081 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系
高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍
- 2086 幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响
周颖, 周忠杰, 许琦华
- 2091 人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定
张娜, 刘学芳, 李建国
- 2096 急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效
黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳
- 2100 异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用
赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲
- 2104 拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征
旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉
- 2109 两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值
叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏威
- 2113 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值
侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明

病例报告

- 2117 血管活性肠肽瘤1例
张丽平, 吴会超, 罗兰

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2030 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2037 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2050 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2056 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2062 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2069 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2075 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2080 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2085 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2090 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2095 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2009-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2009
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-07-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

July 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 21

BASIC RESEARCH	<p>2009 Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure <i>Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ</i></p> <p>2016 Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402 <i>Li W, Zhu MY, Lu Y, Zhu LQ, Dong X, Chen Y, Li MS</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>2023 Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases <i>Xue AJ, Zhou P, Wang JD, Xia TY</i></p> <p>2031 Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucose gastritis and gastric cancer <i>Chen J, Zhu HH, Xu YJ, Gu X, Zhu P</i></p> <p>2038 Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma <i>Wu JW, Li T, Li JJ, Meng YP, Chai XQ</i></p>
REVIEW	<p>2045 Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population <i>Mo SJ, Ke SR, Zhang JT, Yang SL</i></p> <p>2051 Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer <i>Wang JQ, Huang Y</i></p> <p>2057 Pro-apoptosis gene PUMA and cancer <i>Peng SL, Dai CL</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>2063 Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells <i>Chen XM, Ye L, Leng AM, Liu T</i></p> <p>2070 LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBP via the p38/MAPK signaling pathway <i>Li HY, Li Y, Liu D, Sun HZ, Liu JG</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>2076 Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis <i>Chen YQ, Yang L, Wang GM, Liu WL</i></p> <p>2081 Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma <i>Gao Y, Li Y, Zhou HY, Yan JD, Wu AP</i></p> <p>2086 Effect of <i>Helicobacter pylori</i> eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis <i>Zhou Y, Zhou ZJ, Xu QH</i></p> <p>2091 Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis <i>Zhang N, Liu XF, Li JG</i></p> <p>2096 Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding <i>Huang Y, Zeng K, Xiao Z, Chen Y</i></p> <p>2100 Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy <i>Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K</i></p> <p>2104 Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa <i>Dan Z, Li K, Wang ZH, Xiangba ZX, Gang Z, Chilie WM, Jiang XY, Ba S, Wang J, Ciren ZX, Cidan LZ, De J</i></p> <p>2109 PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B <i>Ye RJ, Zheng PR, Ou YJ, Wei W</i></p> <p>2113 Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer <i>Hou L, Liu ZM, Zhang XM, Zhao MM</i></p>

CASE REPORT	2117 Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report <i>Zhang LP, Wu HC, Luo L</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ.</i> Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(21): 2009-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2009
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群, 南昌大学附属感染病医院 江西省南昌市 330006

雷延昌, 主任医师, 主要从事病毒性肝炎肝衰竭免疫发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160065

江西省科技支撑基金资助项目, No. 2009JX0096

南昌市科技局重点基金资助项目, No. 洪财政[2012]37号社会发展支撑计划-10

作者贡献分布: 课题设计由雷延昌主持; 研究过程由梁青、罗盼、肖影群及雷延昌实施; 论文写作由雷延昌与罗盼完成。

通讯作者: 雷延昌, 主任医师, 330006, 江西省南昌市洪都中大道167号, 南昌大学附属感染病医院。yclaihust@sina.com
电话: 0791-88499615

收稿日期: 2013-05-26 修回日期: 2013-06-24

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse model of acute liver failure

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Ying-Qun Xiao

Yan-Chang Lei, Qing Liang, Pan Luo, Ying-Qun Xiao, Infectious Diseases Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160065; the Foundation of Jiangxi Science and Technology Department, No. 2009JX0096; and the Foundation of Nanchang Science and Technology Division, No. 2012-37-10

Correspondence to: Yan-Chang Lei, Chief Physician, Infectious Diseases Hospital, Nanchang University, 167 Hongdu Middle Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. yclaihust@sina.com

Received: 2013-05-26 Revised: 2013-06-24

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To explore the influence of mesenchymal stem cell-derived molecules (MSC-CM) on cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in an animal model of acute liver failure.

METHODS: D-galactosamine (D-GalN) and lipopolysaccharide (LPS) were used to induce acute liver failure in Balb/c mice. BMSCs were cultured,

purified and passaged to 2-3 generations, and the medium was replaced with DMEM containing 0.05% fetal bovine serum. After further culture for 24 h, the medium containing MSC-CM was obtained. Thirty-six healthy Balb/c mice were randomly divided into two groups: an acute liver failure group (control group) and a MSC-CM treatment group. The Kaplan-Meier method was used for survival analysis. Serum ALT/AST levels were measured at different time points, and liver tissue pathological examination was performed. Serum levels of HMGB1, interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-6 and IL-10 were detected by ELISA. HMGB1 expression and cytoplasmic translocation in hepatocytes were detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The survival rate was significantly higher in the MSC-CM treatment group than in the control group (89.9% vs 50%, $P < 0.05$). MSC-CM treatment decreased the peak levels of AST/ALT at 24 h compared to the control group ($P < 0.01$). Serum levels of HMGB1 at 6, 12, and 24 h and TNF- α , IL-1 β , IL-6 at 24 h were also decreased in the MSC-CM treatment group (all $P < 0.01$); however, IL-10 level was increased in MSC-CM treatment group ($P < 0.01$). Inflammation or necrosis in liver tissue and cytoplasm translocation of HMGB1 in hepatocytes were decreased in the MSC-CM treatment group compared to the control group (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: MSC-CM treatment decreases cytoplasm translocation of HMGB1 in hepatocytes and attenuates liver inflammation and mortality in acute liver failure.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cell-derived molecules; High mobility group box 1; Cytoplasm translocation; Acute liver failure

Lei YC, Liang Q, Luo P, Xiao YQ. Mesenchymal stem cell-derived molecules attenuate cytoplasmic translocation of HMGB1 in hepatocytes in a mouse

■背景资料

髓间充质干细胞分泌因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)可以逆转小鼠急性肝功能衰竭, 后期炎症因子高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)及其肝细胞内移位, 在急性肝衰竭的发生中有重要作用。然而, MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制尚不十分清楚。

■同行评议者

刘亮明, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

■ 研发前沿

相关研究表明, MSC-CM下调肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β (interleukin, I-L-1 β)、IL-6和上调抗炎因子IL-10等抑制过激的炎症反应, MSC-CM是否影响肝细胞HMGB1的胞浆移位, 值得进一步探讨。

model of acute liver failure. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(21): 2009-2015 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2009>

摘要

目的: 骨髓间充质干细胞分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)对急性肝衰竭小鼠高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)肝细胞胞浆移位和释放的影响。

方法: D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GaIN)和脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导建立Balb/c小鼠急性肝衰竭模型; 贴壁筛选法培养纯化小鼠BMSCs, 传至第2-3代更换0.05%胎牛血清培养液24 h获得MSC-CM。36只健康Balb/c小鼠随机均分为肝衰竭对照组和MSC-CM治疗组。Kaplan-meier法进行生存分析, 生化检测1 wk内不同时间点各实验组丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)/谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST), 24 h取肝脏进行肝脏病理检测。ELISA检测血清HMGB1、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10水平, 免疫组织化学分析HMGB1的肝细胞表达和胞浆移位。

结果: MSC-CM治疗组1 wk生存率为88.9%, 显著高于对照组的16.7%($P<0.05$), MSC-CM治疗组24 h的ALT/AST峰值显著低于对照组($P<0.01$)。MSC-CM治疗组在6、12和24 h HMGB1水平以及24 h的TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组($P<0.01$), 而抗炎因子IL-10显著高于对照组($P<0.01$)。MSC-CM治疗组肝脏炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位较对照组明显减轻。

结论: MSC-CM治疗抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1胞浆移位和释放, 减轻肝脏炎症反应, 降低死亡率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 骨髓间充质干细胞分泌因子; 高迁移率族蛋白B-1; 胞浆移位; 急性肝衰竭

核心提示: 本研究发现, 骨髓间充质干细胞分泌因子(mesenchymal stem cell-derived molecules)治疗抑制急性肝衰竭肝细胞高迁移率族蛋白B-1(high mobility group box 1)胞浆移位和释放, 减轻肝脏炎症反应, 降低死亡率。进一步阐明骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem

cells)治疗急性肝衰竭的分子机制, 具有重要的基础和临床应用价值。

雷延昌, 梁青, 罗盼, 肖影群. 骨髓间充质干细胞分泌因子抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2009-2015 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2009.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2009>

0 引言

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有高度自我更新和多向分化潜能, 已经用于多种组织器官损伤的修复。急性肝衰竭是各种诱因导致肝细胞短期大量坏死, 出现肝功能严重受损和多脏器功能衰竭的临床综合症, 病情凶险, 目前的人工肝和抗病毒护肝综合内科治疗有效降低病死率, 其死亡率仍高达60%以上, 严重患者除非实施紧急肝移植无其他特效治疗措施。因肝移植难以普遍开展, BMSCs给急性肝衰竭治疗开辟新的思路。研究显示, BMSCs能在特定环境下分化为类肝细胞样细胞^[1-3], 并能够抑制肝脏炎症反应和促进受损肝细胞再生降低肝衰竭动物死亡率^[4,5]。后来又发现BMSCs分泌的因子(mesenchymal stem cell-derived molecules, MSC-CM)可减轻肝衰竭动物肝细胞坏死, 促进肝细胞再生, 从而提高动物生存率^[6,7], 其作用机制目前知之较少。高迁移率族蛋白B-1(high mobility group box 1, HMGB1)是一种非组蛋白核内结构蛋白, 因比其他促炎因子出现相对较晚、持续时间长, 因此被称为晚期炎症介质^[8]。临床和实验研究表明肝衰竭时HMGB1水平显著升高, 参与急性肝衰竭的炎症反应综合症病理生理过程^[9-11]。最近的研究发现, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)刺激肝细胞HMGB1从胞核转移至胞浆, 发生HMGB1的胞浆内移位, 肝衰竭患者和D-GaIN/LPS动物模型同样发生HMGB1的肝细胞内移位^[12]。我们前期的研究发现BMSCs移植降低肝衰竭动物模型血清HMGB1水平, 提高生存率^[13], 其作用机制尚不明。本研究探讨MSC-CM治疗对急性肝衰竭肝细胞HMGB1胞浆移位的影响, 进一步了解BMSCs对急性肝衰竭HMGB1释放和参与的炎症反应的机制, 为BMSCs对抗肝衰竭炎症反应提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2-3周龄Balb/c小鼠, 体质量10 g \pm 2 g(清

洁级)用于MSCs提取和培养上清MSC-CM获取。6-8周龄♂ Balb/c小鼠, 体重 20 ± 2 g, 用于D-GaIN/LPS诱导急性肝衰竭模型。上述动物由南昌大学医学院动物科学部提供, 动物饲养和处理严格按照美国国立卫生研究院实验动物饲养和使用指南。主要试剂及仪器: 胎牛血清、胰蛋白酶(GIBCO公司, 美国), DMEM低糖培养基(Hyclone公司, 美国), 细菌脂多糖(Sigma公司, 美国), D-氨基半乳糖(Solarbio公司, 中国), HMGB1兔抗鼠单抗(ABGENT公司, 美国), HMGB1和白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10试剂盒(NEB公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 MSCs提取纯化和MSC-CM获取: 拉颈处死2-3周龄♂ Balb/c小鼠, 放入750 mL/L的乙醇中浸泡, 消毒5-10 min。无菌条件下取双股骨和胫骨, 用生理盐水冲洗, 剔除骨表面的组织, 用手术剪从股骨或胫骨的中间剪断, 暴露骨髓腔, DMEM培养基冲洗骨髓腔和骨髓端。吸管将骨髓组织吹打成细胞悬液, 离心 $1000 \text{ r/min} \times 10 \text{ min}$, 去上清, 用10%胎牛血清DMEM培养液重悬细胞接种于 25 cm^2 塑料培养瓶中。48 h全量更换培养液, 弃去悬浮细胞, 倒置显微镜下观察细胞生长状态。贴壁法培养法获得MSCs, 每2-3 d换液1次, 直至长至80%-90%融合时, 用0.25%胰酶消化1:2传代。取第二或三代MSCs弃去完全培养基, 无血清培养基洗涤3次, 更换为含有0.05%胎牛血清培养液培养24 h, 上清为MSC-CM用于本研究。

1.2.2 小鼠MSCs的鉴定: 细胞盖玻片风干后用4%多聚甲醛固定细胞15 min, 0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min; 风干后滴加1%BSA封闭抗原, 于37℃下孵育30 min; 滴加CD34/CD29抗体(1:200), 37℃下孵育1.5 h后用0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min; 滴加FITC标记的山羊抗兔IgG(1:400), 37℃下避光孵育40 min后用0.01 mol/L PBS液洗3遍, 每次5 min。用50%甘油缓冲液封片, 置于荧光显微镜下观察。

1.2.3 动物模型及分组: 将36只6-8周龄♂ Balb/c小鼠, 体重 20 ± 2 g, 常规喂养2 d, 实验前禁食12 h, 不禁水。将动物随机分为2组: 急性肝衰竭组(对照组, $n = 18$)给予600 mg/kg D-氨基半乳糖和40 $\mu\text{g/kg}$ 细菌脂多糖, 0.9%氯化钠稀释至0.2 mL腹腔注射。MSC-CM治疗组($n = 18$)在腹腔注射D-GaIN/LPS前后1 h分别尾静脉注射来源于 1×10^7 个细胞的24 h培养上清1 mL, 对照组在相

应时间点尾静脉注射等量生理盐水。

1.2.4 标本收集: 二组分别于腹腔注射D-GaIN/LPS后12、24、48 h至1 wk眼眶采血分离血清置于-80℃保存。24 h处死, 肝组织用40 g/L的甲醛固定, 进行HE染色和免疫组织化学检测。

1.2.5 血清生化和细胞因子检测: 全自动生化分析仪检测丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)。血清HMGB1和细胞因子检测按照生产厂家说明书进行, 根据标准曲线计算结果。

1.2.6 免疫组织化学: 肝组织切片常规脱蜡, 3%过氧化氢室温孵育10 min, 清除内源性过氧化氢酶, PBS洗3次, 3 min/次。10%山羊血清封闭30 min, PBS稀释一抗(HMGB1, 1:100), 甩掉封闭液, 每片滴加100 μL 一抗, 4℃过夜, PBS洗3次, 滴加羊抗兔辣根过氧化物酶标记二抗室温孵育20 min, PBS振洗后滴加DAB显色剂充分显色, 自来水洗终止反应, 苏木素复染细胞核, 再脱水、透明、晾干中性树胶封片。

统计学处理 所有数据用SPSS18.0软件作统计学分析, 数据资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, SPSS18.0绘制生存曲线, 生存率比较采用Log-rank检验, 两组样本均数的比较应用 t 检验, 两个样本率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为统计学显著性差异。

2 结果

2.1 MSC-CM治疗提高D-GaIN/LPS肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT/AST水平 D-GaIN/LPS腹腔注射肝衰竭小鼠1 wk生存率为50%, 死亡集中发生在腹腔注射后12-24 h之间, 而MSC-CM治疗组小鼠1 wk生存率为88.9%。Kaplan-Meier法对小鼠生存率分析, Log-rank检验结果显示, MSC-CM治疗组生存率显著高于肝衰竭对照组($P < 0.05$, 图1A)。肝衰竭小鼠血清ALT/AST水平在12 h开始升高, 24 h达高峰, 48 h开始下降, 并逐渐恢复正常, MSC-CM治疗组血清ALT/AST水平在12 h和24 h较对照组降低, 其中24 h水平有显著性差异($P < 0.01$, 图1B, C)。

2.2 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠血清HMGB1、炎症因子和抗炎因子水平的影响 近年来发现HMGB1在急性肝衰竭炎症反应中十分重要, 研究者前期发现BMSC移植降低肝衰竭小鼠HMGB1水平, 提高生存率。ELISA检测不同时间点血清HMGB1水平发现, D-GaIN/LPS诱导肝衰竭Balb/c小鼠血清HMGB1在6 h已开始升

■ 相关报道

近来发现, MSC-CM与骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)同样可以逆转急性肝衰竭, 作者前期的研究发现BMSCs抑制急性肝衰竭HMGB1水平, 减轻肝脏炎症反应, 其作用机制待进一步研究。

■ 创新盘点

MSC-CM抑制急性肝衰竭炎症反应的机制众多, 本文从MSC-CM能抑制HMGB1水平入手, 探讨MSC-CM对急性肝衰竭小鼠肝细胞HMGB1胞浆移位的作用进行研究, 为BMSCs治疗急性肝衰竭提供新的理论基础。

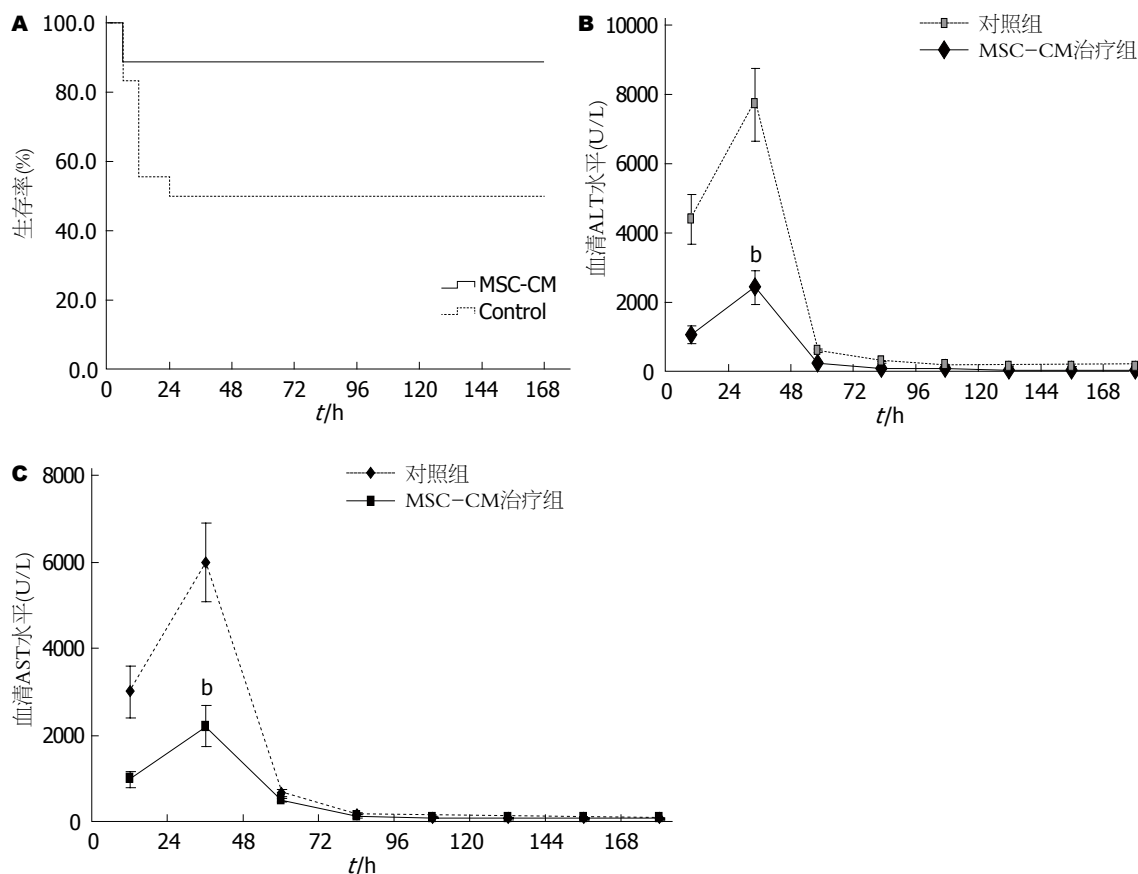


图1 MSC-CM治疗提高D-GalN/LPS肝衰竭小鼠生存率和降低血清ALT/AST水平。A: Kaplan-Meier生存分析小鼠生存率, $P = 0.016$ (Log-rank test, $F = 5.631$); B, C: MSC-CM治疗组和急性肝衰竭对照组血清ALT和AST在12、24、48、73、96、120、144和168 h的水平, $^b P < 0.01$ vs 对照组。ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子。

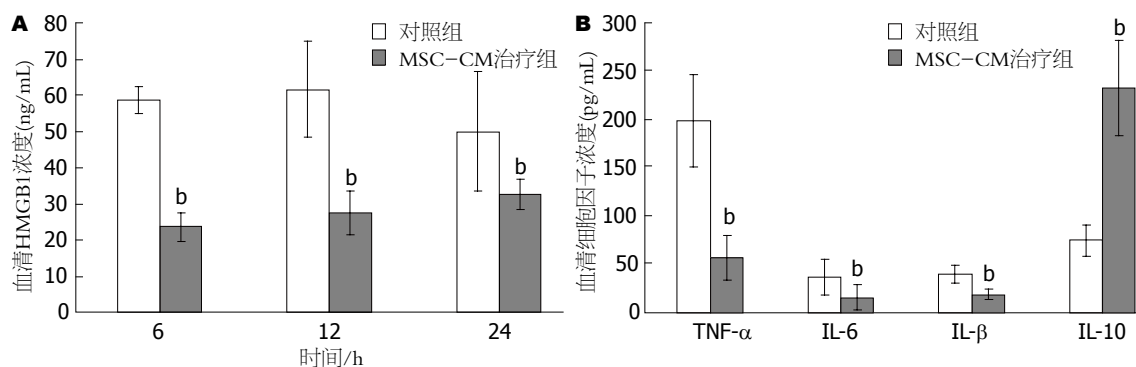
高, 12 h达高峰, 24 h开始下降, 48 h接近正常水平。为了解MSC-CM治疗对肝衰竭HMGB1的影响, 比较6、12和24 h血清HMGB1水平, 结果显示MSC-CM治疗组在上述3个时间点HMGB1水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$) (图2A)。为了解MSC-CM治疗对急性肝衰竭炎症因子的影响, ELISA检测血清不同时间点炎症性细胞因子和抗炎因子水平的结果显示, MSC-CM治疗组TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组($P < 0.01$) (图2B), 而抗炎因子IL-10显著高于对照组($P < 0.01$) (图2B)。

2.3 MSC-CM治疗减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位 肝衰竭对照组有大量肝细胞片状坏死, 肝索断裂, 坏死区域大量炎细胞浸润, HMGB1不仅在胞核表达, 大量肝细胞胞浆有明显表达(图3A, C)。MSC-CM治疗组肝小叶结构基本完整, 局灶性炎细胞浸润, HMGB1胞浆表达肝细胞较少(图3B, D)。图像分析对照组HMGB1肝细胞移位率显著高于MSC-CM治疗组($P < 0.01$, 图3E)。

3 讨论

本研究应用♂ Balb/c小鼠腹腔注射D-GalN/LPS建立急性肝衰竭模型, 小鼠1 wk生存率为50%, 动物死亡发生在给药后12-24 h, 与作者之前的研究一致^[13]。MSC-CM治疗组小鼠1 wk生存率为88.9%显著高于肝衰竭对照组。检测外周血ALT/AST水平可反映肝脏损伤程度, 肝衰竭小鼠血清ALT/AST水平在12 h开始升高, 24 h达高峰, 48 h开始下降并逐渐恢复正常。与国外的研究一致^[6,7], MSC-CM治疗组血清ALT/AST水平24 h峰值较对照组显著降低, 表明MSC-CM治疗减轻肝细胞损伤, 对肝衰竭保护作用与BMSCs相似。

肝衰竭大面积肝组织损伤引起局部甚至全身炎症反应综合征, 最终导致多器官功能衰竭。近年来发现HMGB1在急性肝衰竭炎症反应中十分重要, 研究者前期发现BMSC移植降低肝衰竭小鼠HMGB1水平, 提高生存率。肝衰竭小鼠血清HMGB1在6 h已开始升高, 12 h达高峰, 24 h开始下降, MSC-CM治疗组在6、12和24 h 3个时间点HMGB1水平显著低于对照组。与之相一致, MSC-CM治疗组血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平显著低于肝衰竭对照组, 而抗炎因子IL-10显著



■应用要点

自体BMSCs移植对急性肝衰竭患者具有治疗作用, 本研究显示MSC-CM具有逆转急性肝衰竭作用, 值得进一步临床研究. 由于MSC-CM可反复大量获得, 直接通过静脉注射而不需移植, 具有较好的应用前景.

图2 MSC-CM治疗对肝衰竭小鼠血清炎症因子水平的影响($n=18$). A: MSC-CM治疗组和对照组血清6、12和24 h血清HMGB1水平有显著性差异, $^bP<0.01$ vs 对照组; B: MSC-CM治疗组和对照组血清24 h TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-10水平有显著性差异, $^bP<0.01$ vs 对照组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率族蛋白B-1.

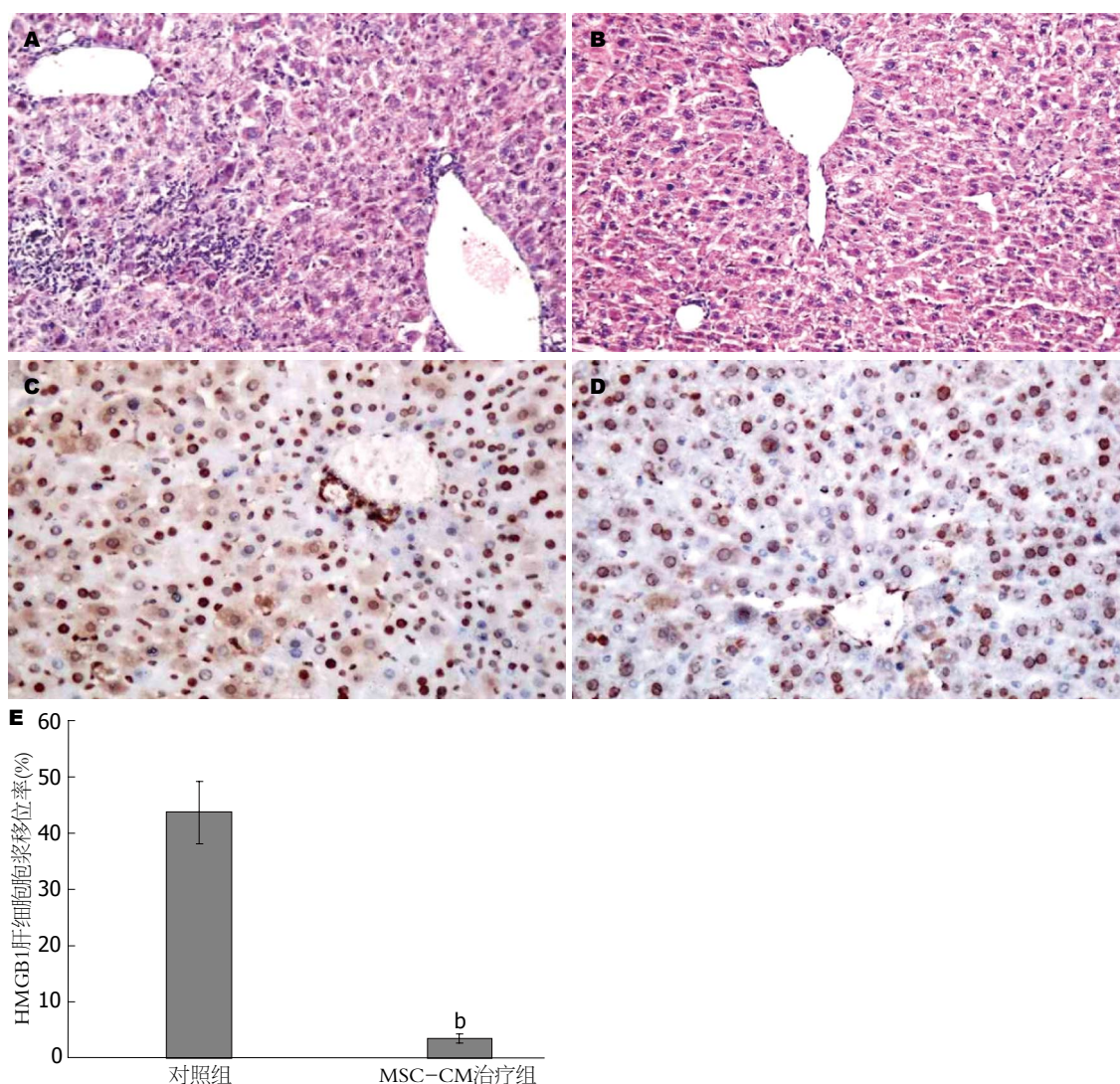


图3 MSC-CM减轻肝衰竭小鼠肝组织炎症坏死和肝细胞HMGB1胞浆移位. A: 肝衰竭对照组小鼠肝细胞片状坏死, 肝索断裂, 坏死区大量炎细胞浸润($\times 100$); B: MSC-CM治疗组肝小叶结构基本完整, 局灶性炎细胞浸润($\times 100$); C: 肝衰竭对照组HMGB1不仅在胞核表达, 大量肝细胞胞浆有明显表达($\times 100$); D: MSC-CM治疗组HMGB1胞浆表达的肝细胞较少($\times 100$); E: MSC-CM治疗组和对照组HMGB1肝细胞移位率的比较, $\chi^2=12.81$, $^bP<0.01$. MSC-CM: 骨髓间充质干细胞分泌的因子; HMGB1: 高迁移率族蛋白B-1.

高于对照组. 此外, MSC-CM治疗组肝脏炎症坏死程度较对照组明显减轻. 提示MSC-CM治疗

增加抗炎因子IL-10水平, 降低HMGB1和多种炎症因子水平减轻肝脏炎症坏死.

■同行评价

本文具有一定的基础和临床应用价值。

目前认为,内毒素血症和巨噬细胞活化释放的HMGB1和TNF- α 等炎症因子在急性肝衰竭发病中具有重要作用。急性肝衰竭枯否细胞对内毒素灭活能力降低,内毒素血症发生率可高达90%-100%。研究显示,急性肝衰竭Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)在各种免疫细胞表达增加^[14]。内毒素,主要是革兰氏阴性菌的LPS,与TLR4结合,通过活化核转录因子NF- κ B,刺激大量炎症因子释放,导致继发性全身炎症反应综合症,导致肝衰竭发生发展^[15,16]。HMGB1被证明为是一个炎症因子^[17,18],既可以通过活化的单核细胞/巨噬细胞,中心粒细胞和内皮细胞主动释放,也可以通过坏死的细胞被动释放^[19,20]。HMGB1可以直接促进炎症因子的释放(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-8等)和外周血单核细胞释放趋化因子^[20-22],募集更多炎症细胞放大炎症反应,加重肝组织损伤。动物模型和临床研究显示, HMGB1与急性肝衰竭发生和疾病的严重程度密切相关^[23,24]。在本研究中, MSC-CM治疗降低HMGB1和炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)水平,有效抑制炎症反应和肝组织损伤,表现为血清ALT/AST水平下降、肝脏炎症坏死减轻和生存率提高。

研究证明, MSCs治疗下调肾脏和肺缺血再灌注损伤局部炎症因子和上调抗炎因子IL-10水平对抗组织炎症坏死^[25,26]。最近的结果显示, MSCs分泌的因子上调IL-10水平逆转急性肾损伤^[27]。表明, MSC-CM有可能通过上调IL-10水平对抗急性肝衰竭肝脏炎症反应,发挥治疗效应。本研究显示, MSC-CM同时具有上调抗炎因子IL-10水平和下调包括HMGB1在内的促炎因子水平,可能是MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制之一。

最近研究显示^[12], LPS刺激肝细胞HMGB1从胞核转移至胞浆,发生HMGB1的细胞内移位并主动释放HMGB1,但与肝细胞坏死被动释放有显著差别,该过程并不依赖肝细胞坏死。与之相一致,肝衰竭患者和D-GaIN/LPS急性肝衰竭模型都存在HMGB1的肝细胞胞浆移位。我们前期的研究发现BMSCs移植降低肝衰竭动物模型血清HMGB1水平,提高生存率^[13]。本研究发现, MSC-CM治疗减轻急性肝衰竭肝组织炎症坏死,同时伴有HMGB1的胞浆移位减少,从而降低肝细胞释放HMGB1。在正常情况下,虽然肝细胞不是释放HMGB1的主要细胞,但由于肝细胞数量巨大,在急性肝损伤情况下, LPS等刺激肝细

胞HMGB1移位和主动释放,进一步加重肝损伤。MSC-CM治疗降低肝细胞HMGB1胞浆移位可达到及早对抗急性肝衰竭炎症反应和疾病进展。

总之, MSC-CM治疗与BMSCs移植同样可以降低急性肝衰竭HMGB1和TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子水平,减轻肝脏炎症坏死,提高生存率。抑制急性肝衰竭肝细胞HMGB1的胞浆移位减少HMGB1释放,可能是MSC-CM治疗急性肝衰竭的机制之一。上述结果为BMSCs抗肝衰竭炎症反应治疗提供了新的理论基础,具有重要的理论和应用价值。

4 参考文献

- 1 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002; 109: 1291-1302 [PMID: 12021244]
- 2 Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H, Zare Mehrjardi N, Kazemi Ashtiani S, Malekzadeh R, Baharvand H. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3359-3363 [PMID: 17659676]
- 3 Anzalone R, Lo Iacono M, Corrao S, Magno F, Loria T, Cappello F, Zummo G, Farina F, La Rocca G. New emerging potentials for human Wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 423-438 [PMID: 19958166 DOI: 10.1089/scd.2009.0299]
- 4 Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, Chen CT, Shih YR, Fang SC, Yang VW, Lee OK. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 2111-2121, 2111-2121 [PMID: 18455168]
- 5 Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848 [PMID: 18243183 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.12.024]
- 6 van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, Berthiaume F, Nahmias Y, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration in vitro and in vivo. *Hepatology* 2008; 47: 1634-1643 [PMID: 18395843 DOI: 10.1002/hep.22236]
- 7 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982 DOI: 10.1371/journal.pone.0000941]
- 8 Erlandsson Harris H, Andersson U. Mini-review: The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator. *Eur J Immunol* 2004; 34: 1503-1512 [PMID: 15162419 DOI: 10.1002/eji.200424916]
- 9 Zhou RR, Liu HB, Peng JP, Huang Y, Li N, Xiao MF, Wang H, Fan XG. High mobility group box chromosomal protein 1 in acute-on-chronic liver

- failure patients and mice with ConA-induced acute liver injury. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 213-219 [PMID: 22609241 DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.05.006]
- 10 刘洪波, 范学工, 黄建军, 李宁, 彭建萍, 李沙陵. 乙型肝炎患者血清高迁移率族蛋白1含量的检测及临床意义. *中华肝脏病杂志* 2007; 11: 812-815
- 11 刘婷, 贺永文. 高迁移率族蛋白B1在急性肝功能衰竭小鼠中的表达变化. *中华传染病杂志* 2010; 28: 209-213
- 12 Zhou RR, Zhao SS, Zou MX, Zhang P, Zhang BX, Dai XH, Li N, Liu HB, Wang H, Fan XG. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 21 [PMID: 21406085 DOI: 10.1186/1471-230X-11-21]
- 13 易珍, 孙水林, 刘翠云, 雷延昌. 同种异体骨髓间充质干细胞对急性肝衰竭HMGB1的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1396-1401
- 14 陈煜, 时红波, 张帆, 丁美, 赵军, 刘旭华, 段钟平. TLR2、TLR4和TLR9在慢性重型肝炎患者及肝衰竭大鼠中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1320-1325
- 15 段美丽, 王彦军, 韩德五. 急性肝功能衰竭时肠黏膜屏障损伤的研究. *中国病理生理杂志* 1999; 15: 906-908
- 16 Rolando N, Wade J, Davalos M, Wendon J, Philpott-Howard J, Williams R. The systemic inflammatory response syndrome in acute liver failure. *Hepatology* 2000; 32: 734-739 [PMID: 11003617 DOI: 10.1053/jhep.2000.17687]
- 17 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240 DOI: 10.1084/jem.20042614]
- 18 Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600 DOI: 10.1126/science.285.5425.248]
- 19 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191-195 [PMID: 12110890 DOI: 10.1038/nature00858]
- 20 Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, Ferrera D, Porto A, Bachi A, Rubartelli A, Agresti A, Bianchi ME. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J* 2003; 22: 5551-5560 [PMID: 14532127 DOI: 10.1093/emboj/cdg516]
- 21 Andersson U, Wang H, Palmblad K, Aveberger AC, Bloom O, Erlandsson-Harris H, Janson A, Kokkola R, Zhang M, Yang H, Tracey KJ. High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 565-570 [PMID: 10952726 DOI: 10.1084/jem.192.4.565]
- 22 Raucci A, Palumbo R, Bianchi ME. HMGB1: a signal of necrosis. *Autoimmunity* 2007; 40: 285-289 [PMID: 17516211 DOI: 10.1080/08916930701356978]
- 23 赵中夫, 韩德五, 张芸, 王锋, 刘明社. 高迁移率族蛋白-1在实验性急性肝衰竭中的作用. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 388-389
- 24 彭建平, 范学工, 刘洪波. 慢性乙型肝炎患者高迁移率族蛋白-1 mRNA的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 167-172
- 25 Tögel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F31-F42 [PMID: 15713913 DOI: 10.1152/ajprenal.00007.2005]
- 26 Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, Phinney DG. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 11002-11007 [PMID: 17569781 DOI: 10.1073/pnas.0704421104]
- 27 Milwid JM, Ichimura T, Li M, Jiao Y, Lee J, Yarmush JS, Parekkadan B, Tilles AW, Bonventre JV, Yarmush ML. Secreted factors from bone marrow stromal cells upregulate IL-10 and reverse acute kidney injury. *Stem Cells Int* 2012; 2012: 392050 [PMID: 23319959]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



pHBx-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞中的表达

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董棚, 陈彬, 李孟森

■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生在世界性多发肿瘤中排第5位, 其致死率居致死性肿瘤的第3位。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染在肝癌的发生发展过程中发挥重要作用, 但是HBV没有直接诱导肝细胞恶变的功能, 目前, 认为HBV基因组编码产物HBx蛋白与HCC发生密切相关。

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董棚, 陈彬, 李孟森, 海南医学院肿瘤发生和干预重点实验室 海南省海口市 571199

李伟, 朱明月, 鲁琰, 董棚, 陈彬, 李孟森, 海南医学院分子生物学重点实验室 海南省海口市 571199

朱丽琴, 海南医学院基础医学院生物科学 海南省海口市 571199

李伟, 助理研究员, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260306, 81160261, 31060164

教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0124

教育部重点科技基金资助项目, No. 211146

海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038

海南省自然科学基金资助项目, Nos. 811208, 310044

海南省教育厅高等学校科学研究基金资助项目, No. Hkj2011-30

海南医学院科研培育基金资助项目, No. HY2010-021

作者贡献分布: 李伟负责构建载体并转染细胞、检测蛋白质表达; 朱明月负责载体序列的测定和载体在细胞定位的观测; 鲁琰负责细胞培养, 检测载体的表达; 朱丽琴负责构建载体和转染细胞, 检测载体的表达; 董棚负责PCR引物的设计, 扩增载体的DNA以及酶切电泳; 陈彬负责细胞培养和研究数据的分析; 李孟森负责研究内容的设计与数据分析; 本论文写作由李伟与李孟森完成。

通讯作者: 李孟森, 研究员, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院分子生物学重点实验室. mengsenli@163.com

电话: 0898-66893780

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-06-09

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Li-Qin Zhu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Li-Qin Zhu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Wei Li, Ming-Yue Zhu, Yan Lu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li, Hainan Key Laboratory of Molecular Biology, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Li-Qin Zhu, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260306, 81160261, and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; the Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; the Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science

Foundation of Hainan Province, Nos. 811208 and 310044; the Scientific Research Project of Education Department of Hainan Province, No. Hkj2011-30; the Research Cultivation Fund of Hainan Medical College, No. HY2010-021

Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-06-09

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To construct an eukaryotic expression vector carrying hepatitis B virus X (HBx) gene and enhanced green fluorescent protein gene (pHBx-EGFP), and to express it transiently in hepatocellular carcinoma (HCC) Bel 7402 cells for observing the expression and cellular localization of HBx-EGFP fusion protein and providing an experimental tool for investigating the function of HBx gene.

METHODS: pcDNA3.1-HBx was used to amplify the HBx gene fragment by polymerase chain reaction (PCR). Recombinant DNA technology was used to insert the HBx gene into the eukaryotic expression vector pEGFP to obtain a recombinant vector pHBx-EGFP. After the recombinant vector or pEGFP was transfected into Bel 7402 cells for 24 h, the expression and subcellular location of HBx-EGFP was detected under an inverted fluorescence microscope, and the expression of HBx protein in total cellular proteins was detected by Western blot.

RESULTS: Restriction digestion and DNA sequence analyses verified that the recombinant plasmid was constructed successfully. After the HBx-EGFP recombinant plasmid was transfected into Bel 7402 cells, it was found that HBx-EGFP was present in the perinuclear region, while EGFP was distributed throughout the cells. Western blot analysis demonstrated that EGFP and HBx were expressed efficiently.

CONCLUSION: A recombinant eukaryotic fluorescent expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) has been constructed suc-

■同行评议者

于颖彦, 教授, 瑞金医院消化外科研究所与器官移植中心

cessfully, which could express EGFP and HBx in Bel 7402 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma cells; Hepatitis B virus X gene; EGFP

Li W, Zhu MY, Lu Y, Zhu LQ, Dong X, Chen Y, Li MS. Construction and identification of a green fluorescent protein expression vector carrying the HBx gene (pHBx-EGFP) and its expression in hepatocellular carcinoma cell line Bel 7402. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2016-2022 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2016.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2016>

摘要

目的: 构建乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)-X蛋白(hepatitis B virus x protein, HBx)和增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)真核融合蛋白表达载体(pHBx-EGFP), 转染肝癌Bel 7402细胞, 观察其表达和定位, 为进一步研究HBx功能提供工具。

方法: 以pcDNA3.1-HBx为模板, 应用PCR和DNA重组技术构建增强型绿色荧光蛋白HBx-EGFP融合蛋白表达载体pHBx-EGFP, 经脂质体转染Bel 7402细胞, 应用倒置荧光显微镜观察融合蛋白表达和定位; 同时提取转染pHBx-EGFP 24 h后的Bel 7402细胞总蛋白, 应用Western blot技术, 鉴定HBx在细胞的表达情况。

结果: 成功扩增HBx片段插入pEGFP载体, 经酶切验证后测序正确; pHBx-EGFP转染Bel 7402细胞24 h后, 荧光显微镜下观察显示HBx-EGFP存在于细胞核周区域, 而EGFP则弥散分布于整个细胞; Western blot得到HBx-EGFP、EGFP和HBx目的条带。

结论: 成功构建pHBx-EGFP真核重组蛋白表达载体, 通过检测绿色荧光蛋白标记显示其在Bel 7402细胞中表达及定位, 并证实pHBx-EGFP载体能在Bel 7402细胞正确表达。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝癌细胞; 乙型肝炎病毒x基因; 增强型绿色荧光蛋白

核心提示: 本研究成功构建pHBx-EGFP真核重组蛋白表达载体, 通过检测绿色荧光蛋白标记显示其在Bel 7402细胞中表达及定位, 并通过Western blot证实pHBx-EGFP载体能在Bel 7402细胞内正

确表达。将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定前期的工作基础。

李伟, 朱明月, 鲁琰, 朱丽琴, 董璐, 陈彬, 李孟森. pHbX-EGFP载体构建及其在肝癌Bel 7402细胞的表达. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2016-2022 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2016.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2016>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是导致肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生的主要危险因素之一, 据统计HCC中有55%的病例与HBV感染相关, 并且发病呈逐年上升趋势^[1]. 虽然HBV的确切致癌机制尚未完全阐明, 但目前认为HBV-X基因及其产物X蛋白(hepatitis B virus X, HBx)在HCC的发生过程中起着至关重要的作用^[2,3]. 在慢性HBV感染携带者的肝细胞中经常可检测到HBV DNA整合宿主染色体中^[4], 但是HBV没有直接诱导肝细胞恶变的功能, 其可通过HBx转录本的积累诱导多种与肿瘤相关基因的异常表达, 这些基因涉及细胞信号转导、细胞周期控制以及细胞迁徙和转移等功能^[5-7], 提示HBx在肝癌发生过程中扮演重要角色. 为了简单直观的了解HBx在HCC发生发展中的生物学功能, 本研究根据EGFP蛋白的特殊性质, 将HBx与EGFP构建融合蛋白, 导入肝癌细胞中观察HBx在细胞中的表达和定位, 为进一步研究HBx在HCC发生过程中的作用机制提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞系Bel 7402细胞和pcDNA3.1-HBx质粒本实验室保存; pEGFP质粒购自长沙赢润生物技术有限公司; DH5 α 感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司; 限制性内切酶Hind III和EcoR I 购自New England Biolabs公司; pMD18-T Simple载体和PCR TaqTM购自TaKaRa公司; GFP单克隆抗体购自碧云天生物技术有限公司; 细胞培养基DMEM为GIBCO干粉, 胎牛血清购自索莱宝科技有限公司; 转染试剂LIPO-FECTAMINETM 2000购自Invitrogen公司; HBx单克隆抗体购自Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 pHbX-EGFP载体构建: 设计包含有酶切位点的引物, 上游引物含有Hind III酶切位点

■ 研发前沿

HBV基因组编码产物HBx蛋白与HCC的发生发展密切相关. HBx是一种多功能蛋白, 通过蛋白间的相互作用或反式激活功能而作用于宿主细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等. 但其参与HCC发生的具体机制还有待进一步阐明。

■创新盘点

本文在保证不发生移码突变的前提下,将HBx基因插入EGFP的前端,因HBx紧靠启动子,后接绿色荧光蛋白(enhance green fluorescent protein, EGFP),只要观察到绿色荧光,说明插入EGFP前端的HBx一定已经表达;为进一步验证HBx蛋白表达正确,我们又应用两种抗体通过Western blot检测出现正确的目的条带。

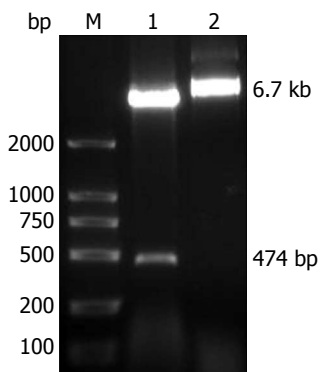


图1 pHBx-EGFP真核表达载体酶切鉴定。M: DNA Marker; 1: pHBx-EGFP载体用Hind III+EcoR I 消化; 2: pEGFP载体用Hind III+EcoR I 消化。EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白。

5'-AAGCTTATGGCTGCTAGGCTGTGCTG-3', 下游引物含有EcoR I 酶切位点5'-GAATTC-GGGCAGAGGTGAAAAAGTTG-3'。将HBx基因开放读码框(open read frame, ORF)中的TAA终止密码子去除,保持pEGFP载体中的三联密码子阅读框不发生移位。引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR体系为50 μ L,以pcDNA3.1-HBx质粒1 μ L为模板,PCR反应条件95 $^{\circ}$ C预变性5 min,循环开始于95 $^{\circ}$ C变性30 s,56 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,共30个循环,72 $^{\circ}$ C延伸5 min。PCR产物胶回收,插入pMD18-simple载体构建TA克隆,PCR验证。构建好的TA克隆和pEGFP质粒各自以Hind III和EcoR I 双酶切,分别将胶回收的小片段和大片段进行连接,连接产物转化大肠杆菌DH5 α 感受态细胞。菌落PCR验证插入片段,挑选3株扩增出目的片段的菌株,摇菌扩增提取质粒Hind III和EcoR I 双酶切,产物电泳出现目的片段的菌株,扩增送上海生工生物工程有限公司测序。将测序结果进行BLAST比对。将已鉴定质粒在DH5 α 中扩增,并用无内毒素质粒大提试剂盒制备转染用重组载体。

1.2.2 Bel 7402细胞的培养及重组载体的脂质体转染: Bel 7402细胞在含10%FBS的DMEM培养液(高糖)(10万U/L的青霉素和链霉素)中,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养,每2-3 d换液或传代1次。转染前24 h,以3 \times 10⁵细胞接种6孔板。转染步骤参照Lipofectamine™ 2000说明书进行,每孔DNA用量为4 μ g, Lipofectamine™ 2000用10 μ L。以不转染载体细胞组为对照,分别转染pEGFP空载体和pHBx-EGFP融合载体,转染后培养24 h。

1.2.3 倒置荧光显微镜观察: 将消化后Bel 7402

细胞悬液接种至6孔板,待转染pEGFP或pHBx-EGFP的Bel 7402细胞在6孔板中培养24 h,以倒置荧光显微镜进行细胞观察,激发光的波长488 nm。将细胞产生的荧光以冷CCD成像,并以彩色(绿色)显示荧光。

1.2.4 Western blot: 预冷的PBS洗细胞,1 mL PBS刮下收集细胞,离心收集,使用RIPA裂解液提取转染24 h细胞总蛋白,Bradford法定量,取60 μ g蛋白上样,8%SDS-PAGE胶电泳,40 V转膜3 h, PBS洗膜10 min,洗3次,5%脱脂奶粉封闭2 h, PBST洗膜3次,每次10 min, HBx或GFP一抗4 $^{\circ}$ C过夜孵育,同样方法洗膜,二抗室温孵育2 h, PBST洗膜3次, ECL发光仪成像。

2 结果

2.1 pHBx-EGFP重组载体双酶切及测序 从转化pHBx-EGFP的DH5 α 菌液中提取重组子质粒,通过Hind III+EcoR I 双酶切后,0.8%琼脂糖TBE电泳可见线性化质粒约为6.7 kb的质粒条带和474 bp的目的条带(图1)。选取酶切鉴定出现目的片段的转化子进行测序,对测序结果进行BLAST,序列分析证实,所克隆的DNA序列为已去除TAA终止密码子的HBx基因编码区全长序列(图2),该基因GenBank登录号为AB210819,结果显示成功构建了pHBx-EGFP重组质粒。

2.2 HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402中的表达及亚细胞定位 将空质粒pEGFP和重组质粒pHBx-EGFP分别转染人肝癌Bel 7402细胞,转染24 h后倒置荧光显微镜观察转染情况,并以未转染的细胞做空白对照。如图3E和H所示,转染空质粒pEGFP和重组质粒pHBx-EGFP的细胞中均出现绿色荧光蛋白表达,可见pEGFP空载体转染表达的绿色荧光蛋白在Bel 7402细胞中弥散、均匀分布(图3F),而重组载体pHBx-EGFP表达的融合蛋白在Bel 7402细胞中主要分布于细胞核区域,并在核周(膜)边缘上有不连续分布现象(图3I)。

2.3 Western blot分析HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402中的表达 融合蛋白分子量约44 kDa, EGFP分子量为27 kDa。应用GFP抗体检测的结果如图4A所示,转染HBx-EGFP融合载体的条带明显与对照EGFP的条带大小不同,与预期结果相同;应用HBx抗体结果如图4B所示,只有转染HBx-EGFP融合载体的细胞蛋白有条带出现,大小与预期相同。

3 讨论

HCC的发生在世界性多发肿瘤中排第5位,其

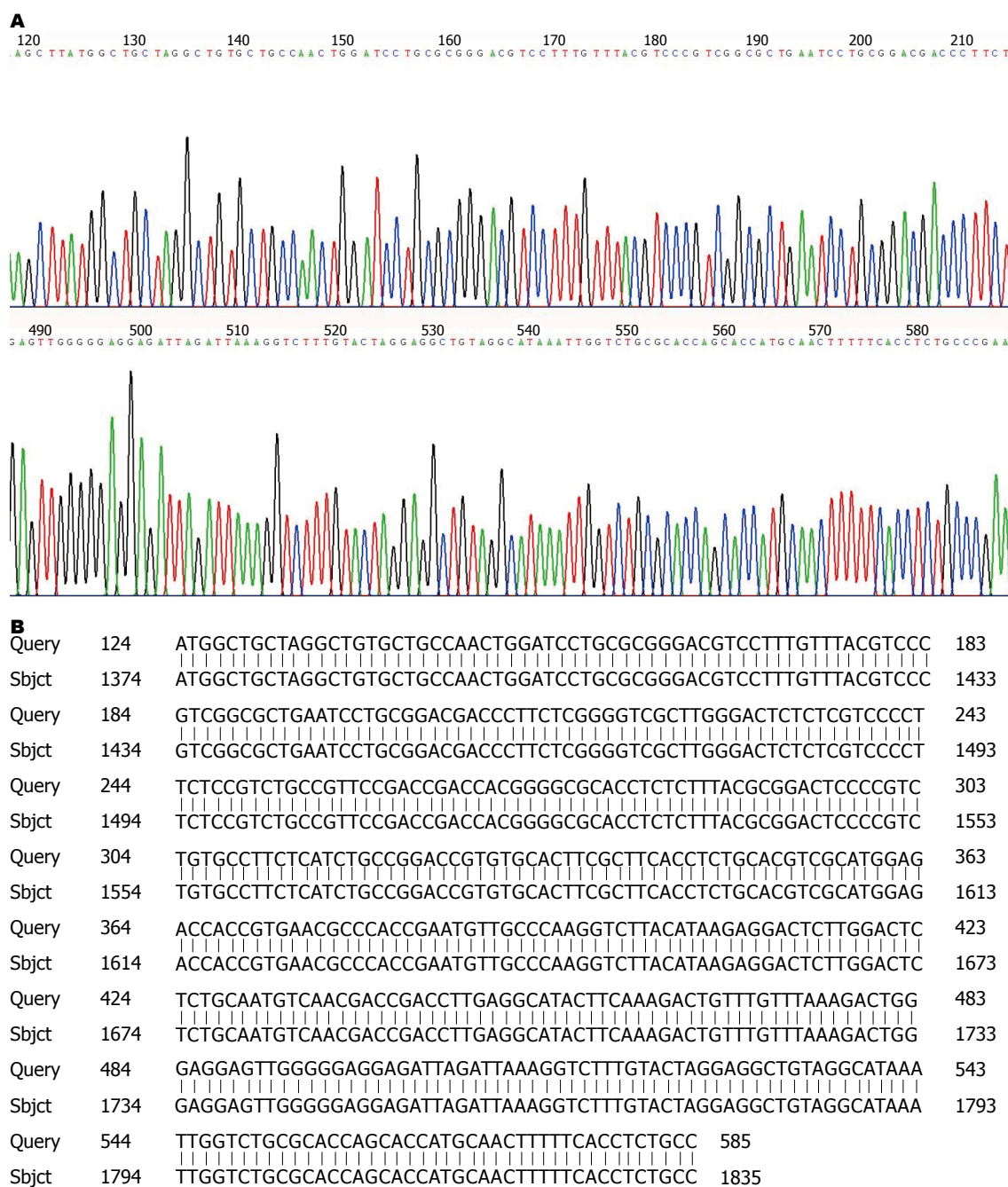


图 2 重组载体HBx部分测序图及BLAST比对结果. A: 构建的载体经基因测序的HBx部分序列; B: 基因库里的HBx序列与测序结果进行BLAST比对. HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白.

致死率仅次于肺癌和胃癌, 居致死性肿瘤的第3位^[8]. HBV感染在肝癌的发生发展过程中发挥重要作用^[9-11]. 其基因组编码产物之一HBx蛋白, 在HCC患者血清和组织中检测到抗HBx抗体和抗原, 表明其与HCC的发生发展密切相关^[12]. HBx直接导致HCC的实验证据较少, 只有少数实验证实转基因鼠研究中, 导入HBx基因可直接诱导HCC的发生^[13]. 新近研究报道, HBx与aflatoxin B1转基因斑马鱼模型中协同导致肝炎、脂肪样变性和过度增生^[14]. 多数研究认为, HBx是一种

多功能蛋白, 可以通过多种途径诱导肝癌形成, 通过蛋白间的相互作用影响目的蛋白在细胞内的正常功能^[15,16], 或者通过反式激活功能影响基因表达而作用于宿主细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等^[5-7]. HBx除了对蛋白功能及基因表达的影响, 近期报道发现HBx还可以影响小RNA(miRNA)的表达, 进而导致其下游靶分子功能异常, 如HBx能够介导miRNA-21的上调从而抑制抑癌因子的功能^[17], 而HBx通过表观修饰抑制miR-132的表达介导肝癌的发生^[18], 因此, 影响

应用要点

本研究成功构建的融合载体, 不仅在探索HBV诱导肝癌发生过程中可应用载体分析HBx对肝细胞恶性转化的作用, 而且携带EGFP载体对细胞转染效率和表达带来很大的方便, 成功构建pHBx-EGFP融合载体将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定了前期的工作基础.

同行评价

本文思路清晰, 研究步骤详尽, 对于从事肝脏疾病研究、病毒研究以及肿瘤基础研究具有一定的参考价值。

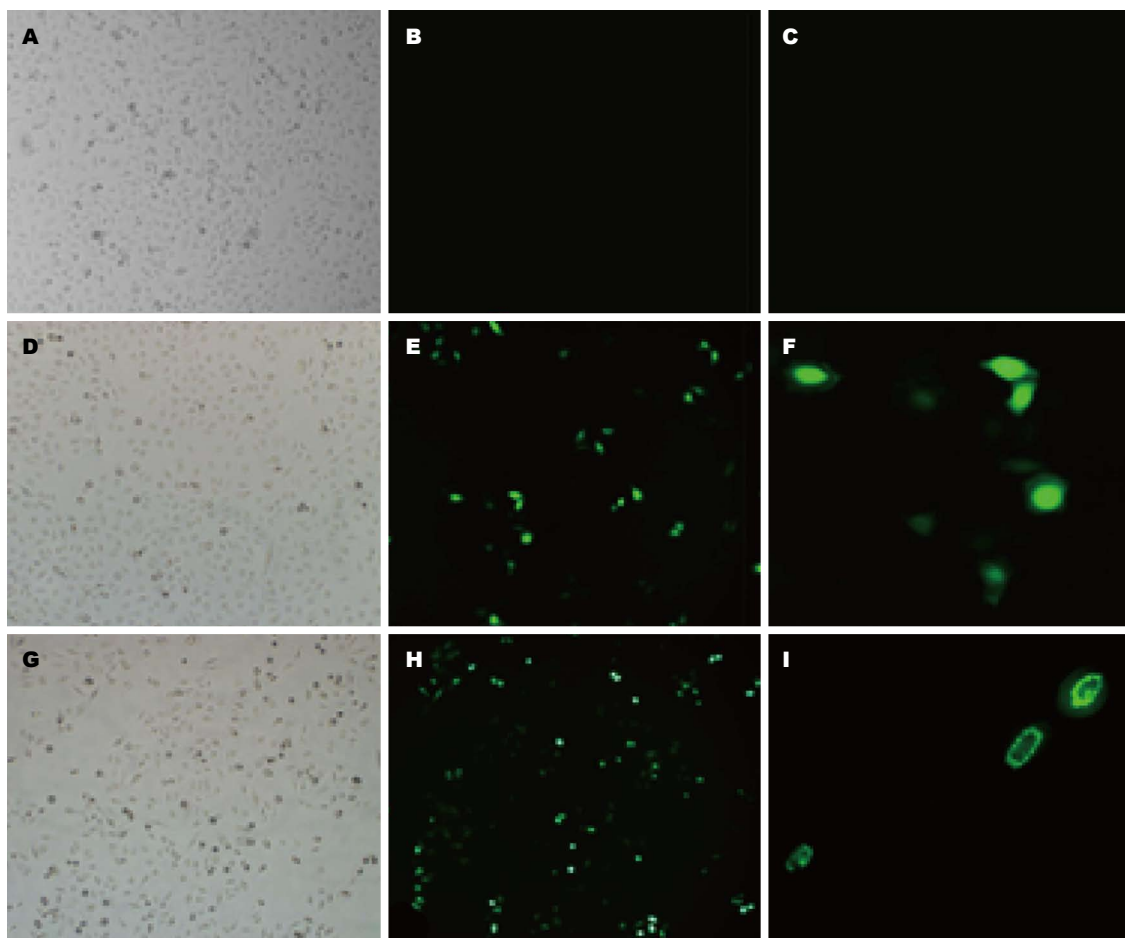


图 3 pEGFP和pHBx-EGFP转染Bel 7402细胞的倒置荧光显微镜观察. A, D, G: 可见光下观察的细胞; B, C, E, F, H, I: 荧光下观察的细胞; A-C: 没有转染载体的Bel 7402(空白对照); D-F: Bel 7402转染pEGFP载体; G-I: Bel 7402转染pHBx-EGFP融合基因载体. A, B, C, D, E, G, H($\times 100$); F, I分别是E和H的放大图像($\times 400$), $n = 3$. EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白.

miRNA表达调控可能是HBx参与HCC发生的又一途径. 虽然, HBx与肝癌的发生密切相关, HBV X基因及其产物HBx在HCC的发生过程中起着至关重要的作用, 但是, 其具体的作用机制还不十分明确. 因此, 进一步研究HBx的功能及在肝癌细胞中的作用, 有助于理解HBV影响肝癌发生发展的机制, 为HBV相关性肝癌的预防和治疗提供线索.

HBx蛋白不同的细胞定位可能使它具有不同的功能^[19,20]. HBx低表达时, HBx主要定位于核内, 在核内起着辅助反式激活转录因子的作用; 高水平表达时聚集在胞质中, 与蛋白质相互作用激活信号传导通路. 绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)是最早发现并应用的荧光蛋白, 其突变体荧光强度比野生型GFP强, 增强型绿色荧光蛋白EGFP就是其突变体的一种^[21], 其荧光强度强, 表达稳定, 构建载体和检测方便, 表达调控简单, 生物安全性好, 是目前应用最广泛

的荧光蛋白之一. HBx是一种由154氨基酸组成的约有17 kDa大小的小分子病毒基因产物, 在分子检测方面存在一定的困难, 为更方便快捷的明确HBx在细胞中的表达和定位, 在本研究中, 我们根据EGFP的特点, 将HBx插入EGFP之前, 保证不发生移码突变, 构建HBx-EGFP融合蛋白, 酶切结果和测序结果显示在构建的融合表达载体中, 确实有HBx基因序列的存在; 在Bel 7402细胞转染pHBx-EGFP载体后, 发现转染重组质粒的细胞中有绿色荧光, 说明质粒成功转入细胞并有蛋白质的表达. 本研究结果显示, HBx-EGFP定位明显与EGFP不同, 融合蛋白24 h多表达于核周, 与彭亮等^[22]的研究结果相一致, 但48 h后趋向于全细胞不连续点状分布(结果未提供). 应用Western blot的方法进一步验证HBx-EGFP表达, 我们先用可识别EGFP抗原的GFP抗体杂交, 得到分子量不同的目的条带, 显示在EGFP的位置不仅能检测到EGFP条带, 也能检测到融合蛋白发生断裂

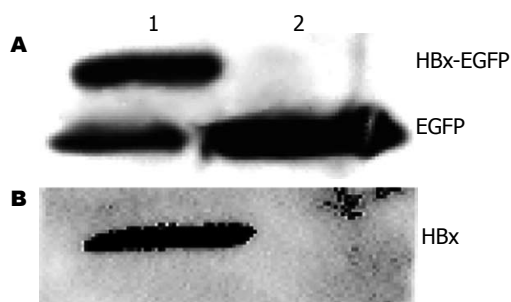


图 4 HBx-EGFP融合蛋白在Bel 7402细胞中的表达. A: 应用GFP一抗检测蛋白质的表达; B: 应用HBx一抗检测蛋白质的表达. 1: 转染pHBx-EGFP融合载体的蛋白质; 2: 转染pEGFP空载体的蛋白. EGFP: 增强型绿色荧光蛋白; HBx: 乙型肝炎病毒-X蛋白.

的EGFP条带; 但使用HBx特异性抗体识别融合蛋白中的HBx结果中, 显示只有HBx蛋白条带出现, 说明构建的载体不仅有融合蛋白表达, 更重要的是HBx蛋白的表达能单独、完整的出现, 提示构建的载体能准确的表达HBx.

HBx对肝细胞的增殖和凋亡存在双向作用^[23,24]. HBx可通过抑制细胞凋亡导致HCC发生^[25,26], 但其他多项研究也表明HBx能诱导和促进细胞凋亡^[27,28], 并且凋亡率与HBx表达量呈正相关^[29]. HBx基因在肝细胞凋亡方面发挥着不同的作用^[30,31]. 在早期阶段, 可能抑制凋亡, 促进肝细胞的增生; 在后期, 促进凋亡, 加速病毒的复制与播散. 在本实验中我们发现, 与转染空载体的细胞相比, 转染HBx-EGFP融合质粒的细胞折光增强, 变圆变小, 随时间增加转入融合质粒的细胞生长状态更差, 说明HBx-EGFP融合蛋白对细胞存在一定的毒性作用, 但这种机制是否由于HBx自身的作用导致并不清楚, 这是值得进一步探讨的问题. 本研究结果显示我们构建的载体能准确的表达HBx, 由于HBx在HBV相关性肝癌中发挥重要作用, 而且HBV感染后通过HBx诱导肝细胞恶性转化, 所以本研究成功构建的融合载体, 不仅在探索HBV诱导肝癌发生过程中可应用载体分析HBx对肝细胞恶性转化的作用, 而且携带EGFP载体对细胞转染效率和表达带来很大的方便和直观; 目前研究发现, 微生物有诱导成熟体细胞自然重编程现象, 乙型肝炎病毒也有诱导肝细胞重编程促使细胞向恶性方向转化的可能, 所以成功构建pHBx-EGFP融合载体将为研究HBx在肝癌发生过程中的作用机制奠定了前期的工作基础.

4 参考文献

- 1 Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus

- infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 273-277 [PMID: 20378277 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.01.005]
- 2 Benhenda S, Cougot D, Buendia MA, Neuveut C. Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis. *Adv Cancer Res* 2009; 103: 75-109 [PMID: 19854353 DOI: 10.1016/S0065-230X(09)03004-8]
- 3 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
- 4 Ng RK, Lau CY, Lee SM, Tsui SK, Fung KP, Waye MM. cDNA microarray analysis of early gene expression profiles associated with hepatitis B virus X protein-mediated hepatocarcinogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 827-835 [PMID: 15336538 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.188]
- 5 邵冰, 杨佳琦, 曹博, 王巨, 张华萍, 王滨有. HBx在原发性肝细胞癌致病机制中的作用. *中华疾病控制杂志* 2011; 15: 241-245
- 6 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
- 7 Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
- 8 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI:10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 9 Pan CQ, Zhang JX. Natural History and Clinical Consequences of Hepatitis B Virus Infection. *Int J Med Sci* 2005; 2: 36-40 [PMID: 15968338 DOI: 10.7150/ijms.2.36]
- 10 Kim BK, Han KH, Ahn SH. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Oncology* 2011; 81 Suppl 1: 41-49 [PMID: 22212935 DOI: 10.1159/000333258]
- 11 Fallot G, Neuveut C, Buendia MA. Diverse roles of hepatitis B virus in liver cancer. *Curr Opin Virol* 2012; 2: 467-473 [PMID: 22722078 DOI: 10.1016/j.coviro.2012.05.008]
- 12 Hwang GY, Lin CY, Huang LM, Wang YH, Wang JC, Hsu CT, Yang SS, Wu CC. Detection of the hepatitis B virus X protein (HBx) antigen and anti-HBx antibodies in cases of human hepatocellular carcinoma. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5598-5603 [PMID: 14662947 DOI: 10.1128/JCM.41.12.5598-5603.2003]
- 13 Kim CM, Koike K, Saito I, Miyamura T, Jay G. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320 [PMID: 2034275 DOI: 10.1038/351317a0]
- 14 Lu JW, Yang WY, Lin YM, Jin SL, Yuh CH. Hepatitis B virus X antigen and aflatoxin B1 synergistically cause hepatitis, steatosis and liver hyperplasia in transgenic zebrafish. *Acta Histochem* 2013 Mar 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23499292 DOI: 10.1016/j.acthis.2013.02.012]
- 15 Lim KH, Choi HS, Park YK, Park ES, Shin GC, Kim DH, Ahn SH, Kim KH. HBx-induced NF- κ B signaling in liver cells is potentially mediated by the ternary complex of HBx with p22-FLIP and NEMO. *PLoS One* 2013; 8: e57331 [PMID: 23483900 DOI:

- 10.1371/journal.pone.0057331]
- 16 Song K, Han C, Zhang J, Lu D, Dash S, Feitelson M, Lim K, Wu T. Epigenetic regulation of miR-122 by PPAR γ and hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2013 May 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23703729 DOI: 10.1002/hep.26514]
- 17 Qiu X, Dong S, Qiao F, Lu S, Song Y, Lao Y, Li Y, Zeng T, Hu J, Zhang L, Zhang L, Fan H. HBx-mediated miR-21 upregulation represses tumor-suppressor function of PDCD4 in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2013; 32: 3296-3305 [PMID: 23604124 DOI: 10.1038/onc.2013.150]
- 18 Wei X, Tan C, Tang C, Ren G, Xiang T, Qiu Z, Liu R, Wu Z. Epigenetic repression of miR-132 expression by the hepatitis B virus x protein in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Cell Signal* 2013; 25: 1037-1043 [PMID: 23376496 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.01.019]
- 19 Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R, King IA. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001; 82: 871-882 [PMID: 11257193]
- 20 Ma J, Sun T, Park S, Shen G, Liu J. The role of hepatitis B virus X protein is related to its differential intracellular localization. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 583-588 [PMID: 21693548 DOI: 10.1093/abbs/gmr048]
- 21 邓超, 黄大昉, 宋福平. 绿色荧光蛋白及其应用. *中国生物工程杂志* 2011; 31: 96-102
- 22 彭亮, 张瑞, 赵晶, 闵婕, 蒲长宇, 周后龙, 杨安钢, 冯英明. 不同结构形式的HBX蛋白对其在肝细胞癌HepG2中分布的影响. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 611-614
- 23 Assrir N, Soussan P, Kremsdorf D, Rossignol JM. Role of the hepatitis B virus proteins in pro- and anti-apoptotic processes. *Front Biosci* 2010; 15: 12-24 [PMID: 20036802 DOI: 10.2741/3601]
- 24 Lee WP, Lan KH, Li CP, Chao Y, Lin HC, Lee SD. Pro-apoptotic or anti-apoptotic property of X protein of hepatitis B virus is determined by phosphorylation at Ser31 by Akt. *Arch Biochem Biophys* 2012; 528: 156-162 [PMID: 22982405 DOI: 10.1016/j.abb.2012.08.008]
- 25 Liu H, Yuan Y, Guo H, Mitchelson K, Zhang K, Xie L, Qin W, Lu Y, Wang J, Guo Y, Zhou Y, He F. Hepatitis B virus encoded X protein suppresses apoptosis by inhibition of the caspase-independent pathway. *J Proteome Res* 2012; 11: 4803-4813 [PMID: 22871131 DOI: 10.1021/pr2012297]
- 26 Wang X, Yang L, She JJ, Fan HM, Zhang FC, Chen YM, Xie QF. [Hepatitis B virus X protein suppresses adriamycin-induced apoptosis of hepatocellular carcinoma cells and expression of p53 and PTEN]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2010; 30: 1775-1778 [PMID: 20813662]
- 27 张生君, 王小众. HBx对肝细胞凋亡的双向调控及机制. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2424-2428
- 28 He P, Zhang D, Li H, Yang X, Li D, Zhai Y, Ma L, Feng G. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int J Mol Med* 2013; 31: 1017-1029 [PMID: 23483208 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1295]
- 29 Yang CH, Cho M. Hepatitis B virus X gene differentially modulates cell cycle progression and apoptotic protein expression in hepatocyte versus hepatoma cell lines. *J Viral Hepat* 2013; 20: 50-58 [PMID: 23231084 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2012.01625.x]
- 30 Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
- 31 Wei Y, Neuveut C, Tiollais P, Buendia MA. Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 267-272 [PMID: 20483545 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.03.005]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院
肿瘤放疗科 北京市 100142

薛安静, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究.

作者贡献分布: 主要实验、病例选择、数据分析及文章起草由薛安静完成; 课题设计、文章修改及审阅由周平、王济东及夏廷毅完成.

通讯作者: 周平, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科.

zhouping4946@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-05-03 修回日期: 2013-05-28

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases

An-Jing Xue, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia

An-Jing Xue, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia,
Department of Radiotherapy, Air Force General Hospital,
Beijing 100142, China

Correspondence to: Ping Zhou, Associate Chief Physician,
Department of Radiotherapy, Air Force General Hospital,
30 Fucheng Road, Haidian District,
China. zhouping4946@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-03 Revised: 2013-05-28

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe gastric or duodenal mucosal injury induced by radiotherapy in patients with pancreatic carcinoma and to analyze possible influencing factors.

METHODS: Thirty-one patients with pancreatic carcinoma who underwent gastroscopy after radiotherapy were included. Their clinical symptoms were graded according to RTOG/EORTC. Gastroscopic findings were graded as I-IV. All patients underwent endoscopic biopsy for histopathological examination. Factors influencing radiotherapy-induced gastric or duodenal mucosal injury were analyzed.

RESULTS: Main clinical symptoms included abdominal distension, anorexia, acid reflux, nausea, vomiting, and abdominal pain. Endoscopic analysis indicated that 4 cases were classified as

grade I (no gastric or duodenal mucosa injury), 6 cases as grade II (mild gastric or duodenal mucositis), 3 cases as grade III (erosive gastritis), and 17 cases as grade IV (including 6 with gastric ulcer, 1 with gastric ulcer and gastric antral deformation, 5 with duodenal ulcer, 1 with anastomotic ulcer, and 4 with duodenal ulcer and narrowing). Endoscopic biopsy and histopathological analysis proved that all cases had inflammatory or ulcerative changes. The rates of detection of gastric or duodenal mucosa injury by γ -ray, 3-D, TOMO or gastroscopy were: γ -ray therapy vs 3-D (80.0% vs 80.0%, $P > 0.0167$), γ -ray therapy vs TOMO (80.0% vs 72.7%, $P > 0.0167$), and 3-D vs TOMO (80.0% vs 72.7%, $P > 0.0167$). When γ -ray radiotherapy dose was 51 Gy (10 cases), 48 Gy (3 cases) and 45 Gy (2 cases), the rates of gastric or duodenal mucosal injury were 90%, 100% and 100%, respectively. The rate of gastric or duodenal mucosal injury did not differ significantly between patients who underwent surgery ($n = 16$) and those who did not undergo ($n = 15$) (87.5% vs 66.7%, $P > 0.05$), between patients receiving concurrent chemoradiotherapy ($n = 9$) and those not receiving ($n = 22$) (66.7% vs 91.9%, $P > 0.05$), between those receiving amifostine during radiotherapy ($n = 10$) and not receiving ($n = 15$) (85.7% vs 82.4%, $P > 0.05$), or between patients having co-morbidities (e.g., diabetes mellitus, hypertension, or inflammatory bowel disease) ($n = 14$) and those not having ($n = 17$) (78.6% vs 76.5%, $P > 0.05$). In contrast, the rate of gastric or duodenal mucosal injury differed significantly between patients given gastrointestinal mucosal protective agents during radiotherapy ($n = 16$) and those not given ($n = 15$) (68.7% vs 100%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastroscopy is a preferred modality for the detection of gastric or duodenal injury induced by radiotherapy in patients with pancreatic carcinoma. High radiation dose is associated with a higher incidence of gastric or duodenal mucosal injury. The use of gastric or duodenal mucosal protective agents is a favorable factor for radiotherapy-induced gastric or duodenal mucosal injury. Radiotherapy techniques, amifostine, abdominal surgery or chronic com-

■背景资料

胰腺癌发病率逐渐升高, 且手术切除率低, 术后复发率高, 对于失去手术切除机会及术后复发的中晚期胰腺癌, 放化疗是其主要治疗手段, 近年来放疗技术的发展, 使得越来越多的胰腺癌患者接受放疗, 但由于胰腺癌本身的解剖关系, 以及对放疗剂量较高的要求, 使得放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤不可避免, 既往由于缺乏客观的观察指标, 对放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤关注不足, 因此我们期望寻求一种客观的观察指标以直观观察胃、十二指肠黏膜损伤.

■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

■ 研发前沿

目前对放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤的研究集中在对损伤的治疗,以改善患者生活质量。

plications have no significant impact on gastric or duodenum injury induced by radiation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic carcinoma; Radiotherapy-induced injury; Gastroscopy

Xue AJ, Zhou P, Wang JD, Xia TY. Gastric or duodenal injury induced by radiotherapy for pancreatic carcinoma: An analysis of 31 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2023-2030 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2023.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2023>

摘要

目的: 探讨胰腺癌放疗导致胃、十二指肠黏膜放射性损伤及其影响因素。

方法: 收集我院胰腺癌放疗后行胃镜检查的31例患者,临床症状根据RTOG/EORTC进行分期,胃镜观察采用内镜分级分为I级-IV级,所有病例均行内镜下组织病理学活检。对胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的影响因素进行统计学分析。

结果: 临床症状观察主要以腹胀、恶心、呕吐、腹痛、出血等急性期胃肠道反应为主。胃镜观察:I级胃、十二指肠黏膜正常4例;II级轻度胃、十二指肠黏膜炎6例;III级糜烂性胃炎3例;IV级病变包括:单纯胃溃疡6例,胃溃疡伴胃窦变形1例;单纯十二指肠溃疡5例,吻合口溃疡1例,十二指肠溃疡合并狭窄4例。所有病例均经胃镜下组织病理学活检,符合炎症或溃疡性改变。 γ -刀、3-D、TOMO 3种不同放疗技术对比结果显示: γ -刀对比3-D总病变率(80.0% vs 80.0%, $P>0.0167$); γ -刀对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$);3-D对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$)。 γ -刀不同放疗剂量对比,总病变率为(90% vs 100% vs 100%),3组结果分别比较 $P<0.0167$ 。放疗前手术组16例,非手术组15例,总病变率(87.5% vs 66.7%, $P>0.05$)。同步GEM化疗9例,非同步化疗22例,总病变率(66.7% vs 91.9%, $P>0.05$)。预防应用胃肠黏膜保护药物16例,未预防应用胃肠黏膜保护药物15例,总病变率为(68.7% vs 100%, $P<0.05$)。放疗期间使用氨磷汀14例,未使用氨磷汀17例,总病变率为(85.7% vs 82.4%, $P>0.05$)。有慢性合并症患者14例,无慢性合并症患者17例,总病变率为(78.6% vs 76.5%, $P>0.05$)。

结论: 本研究胃镜观察结果显示胰腺癌放疗

后胃、十二指肠黏膜放射性损伤发生率高,病变以胃黏膜糜烂、溃疡,十二指肠黏膜溃疡、狭窄等中重度病变为主。对影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤因素分析显示:随着放疗剂量的增加,胃、十二指肠黏膜损伤加重;预防使用胃肠黏膜保护药物可以减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的病变率,差异有统计学意义;但不同放疗技术、是否应用氨磷汀、是否有腹部手术史、是否有慢性合并症对放射性胃、十二指肠黏膜放射性损伤病变率比较无统计学差异。

© 2013版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 放疗损伤; 胃镜

核心提示: 以胃镜客观评估放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤,分析影响放射性损伤的影响因素,以进一步指导治疗,减少放射性损伤的发生。

薛安静, 周平, 王济东, 夏廷毅. 胰腺癌放疗对胃、十二指肠黏膜损伤的胃镜观察31例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2023-2030 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2023.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2023>

0 引言

胰腺癌是一种恶性程度很高的消化系肿瘤,近年来发病率及病死率也呈逐年上升趋势^[1-3],但由于其位置隐匿,缺乏早期的临床表现,发现时80%以上已失去手术切除机会,而对于可切除胰腺癌术后复发率也高达50%-86%^[4]。对于已失去手术切除机会及术后局部复发的中晚期胰腺癌,放疗无疑是重要的治疗手段。尤其是近年来立体定向放疗(γ -stereotactic radiotherapy, γ -SBRT)、三维适形放射治疗(three dimensional conformal radiation therapy, 3D-CRT)、自适应放疗(adaptive radiation therapy, ART)如螺旋断层放射治疗等放射治疗技术在我国的发展应用,使得放疗成为中晚期胰腺癌治疗的主要手段之一^[4]。由于胰腺癌本身的生物学行为对放疗不敏感,达到根治肿瘤剂量要求 >45 Gy,但邻近胰腺的胃、十二指肠接受 >40 Gy的照射剂量就会出现不同程度的胃肠道反应。由于既往胰腺癌放疗应用局限,由其引起的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的研究报道较少。再者由于缺乏客观的观察指标,对于胰腺癌放疗后出现的放射性胃、十二指肠黏膜病变普遍关注不足,常误认为胰腺癌相关症状,直至出现出血、梗阻、穿孔等严重的胃肠道症状

表 1 胰腺癌放疗后胃肠道反应情况

	急性期反应(n)	发生率(%)	晚期反应(n)	发生率(%)
0级	9	29.0	3	15.0
1级	7	22.6	3	15.0
2级	9	29.0	10	50.0
3级	4	12.9	2	10.0
4级	2	6.5	2	10.0
合计	31		20 ¹	
发病率	22	71.0	17	85.0

¹晚期返院随访病例数为20例。

才就诊并行胃镜检查。胃镜在诊断和治疗胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤中具有重要的价值, 现就对我院胰腺癌放疗后行胃镜检查患者的胃镜观察结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2008-01/2013-01胰腺癌放疗后返院复查, 行胃镜检查的31例患者, 既往均无胃、十二指肠炎症、溃疡病史。其中男18例, 女13例, 年龄在44-75岁之间, 平均年龄59岁, 所有病例均经实验室检查、影像学(CT、MRI、PET等)或病理学诊断为胰腺癌。其中9例为胰体尾癌, 22例为胰头癌。分期: II B期5例, III期19例, IV期7例。

1.2 方法

1.2.1 放疗: 均采用现代放疗技术: γ -刀、三维适形放疗(3-D)、螺旋断层放射治疗(TOMO), 其中 γ -刀治疗15例, 三维适形放疗5例, TOMO治疗10例。 γ -刀处方剂量: 周边50%剂量线, GTV: 45 Gy/15 f-51 Gy/17 f, 单次剂量GTV: 3 Gy/f, 三维适形放疗处方剂量: 周边90%等剂量线处, CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/25 f, 单次剂量CTV/GTV: 2 Gy/2.4 Gy/f, TOMO处方剂量: 周边95%等剂量线处, CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/20 f。单次平均剂量为CTV/GTV: 2.5 Gy/3 Gy/f。治疗均采用常规分割, 1 f/1 d, 5 f/1 wk。

1.2.2 其他治疗: 31例患者中, 16例放疗前已行Whipple手术、剖腹探查术或ERCP及支架植入术; 9例放疗期间予吉西他滨1.0 g同步放化疗; 15例放疗期间给予抑酸及胃肠黏膜保护剂, 主要为质子泵抑制剂(奥美拉唑、兰索拉唑类)+胃肠黏膜保护剂(康复新液、硫糖铝、胶体果胶铋); 13例放疗期间给予氨磷汀防辐射治疗。

1.2.3 评价指标: (1)临床观察: 根据RTOG/

表 2 胰腺癌放疗后胃镜观察结果 (n = 31)

	n	发生率(%)
I 级	4	12.9
II 级	6	19.4
III 级	3	9.7
IV 级	18	58.1
合计病变	27 ¹	87.1

¹其中1例患者胃镜下观察: 胃黏膜未见充血、水肿, 黏膜完整, 十二指肠狭窄考虑为肿瘤侵犯十二指肠壁引起, 经组织病理学检查证实为肿瘤浸润十二指肠, 非放疗引起的肠腔狭窄。实际放疗后胃、十二指肠黏膜损伤观察例数为27例。

EORTC急、慢性期胃肠道反应分级标准进行分级^[4]。急性反应多发生在放疗期间及放疗后1-3 mo, 临床表现为不同程度的腹痛、腹胀、恶心、呕吐、胃肠出血等。慢性期, 起始于放疗后3 mo以上, 除了急性期症状, 还可表现为肠腔狭窄、肠梗阻、肠痿等; (2)胃镜观察: 胃镜观察胰腺癌放疗对胃、十二指肠的损伤直观改变为胃肠黏膜损伤, 表现为黏膜充血水肿、糜烂, 溃疡形成, 或肠腔狭窄。评价标准: 胃、十二指肠表现: 内镜下表现为 I 级: 黏膜光滑, 无变形, 绒毛好; II 级: 黏膜轻度充血、肿胀, 血管网显露, 绒毛感不明显; III级: 黏膜充血、肿胀, 伴组织脆性增加, 接触性出血; IV级: 黏膜质脆出血、糜烂, 溃疡形成, 肠腔狭窄。所有病例均行内镜下组织病理学活检。

统计学处理 对胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜放射性损伤的影响因素(放疗技术、放疗剂量、放疗前腹部手术、同步化疗、预防应用胃肠黏膜保护药物、预防应用氨磷汀、慢性合并症)进行表格统计, 对所得样本率用确切概率法计算, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。所有统计数据均采用SPSS12.0统计软件分析。

2 结果

2.1 临床症状观察 临床症状观察结果如表1所示: 该组病例急性期反应发生在开始放疗后3 d到放疗结束后50 d, 中位时间为30 d。晚期反应发生在放疗结束后3-18 mo, 中位时间为7 mo。急性期胃肠道反应发生率为71.0%, 中重度(3-4级)胃肠道反应发生率: 急性期为19.4%, 慢性期为20.0%。一般情况下1-2级胃肠道反应一般不需特殊治疗; 3-4级胃肠道反应常需要药物治疗, 必要时住院治疗。

■ 相关报道

Andreyev等对256例接受盆腔放疗后出现胃肠道症状的患者进行肠镜检查发现34%的患者与放疗无关; 12%的患者则是由于盆腔肿瘤复发引起的胃肠道反应, 只有54%的患者为放疗后引起的胃肠道反应, 说明了建立客观的观察指标的必要性, Theis等指出, 患者体质量下降、合并(高血压、糖尿病、炎症性肠病等)并发症、吸烟、既往行腹部手术、放疗的总剂量以及联合化疗可能影响放射性胃肠损伤的发生, 与本文所述的相关因素一致, 探讨影响放射损伤的因素对治疗有一定的临床意义。

■创新盘点

率先建立以胃镜评估胰腺癌放疗导致的胃、十二指肠黏膜损伤情况,分析其影响因素,以指导进一步治疗。

表 3 不同放疗技术、剂量的胃镜观察结果 $n(\%)$

	γ -刀	3-D	TOMO
I 级	3(20.0)	1(20.0)	3(27.3)
II 级	2(13.3)	2(40.0)	1(9.1)
III 级	—	1(20.0)	1(9.1)
IV 级	10(66.7)	1(20.0)	6(54.6)
合计	15	5	11

3-D: 三维适形放疗; TOMO: 螺旋断层放射治疗。

表 5 同步GEM化疗与非同步化疗的胃镜观察结果 $n(\%)$

	同步GEM化疗	非同步化疗
I 级	3(33.3)	2(9.1)
II 级	1(11.1)	4(18.2)
III 级	1(11.1)	3(13.6)
IV 级	4(44.5)	13(59.1)
合计	9	22

表 4 手术与非手术治疗的胃镜观察结果 $n(\%)$

	手术史	无手术史
I 级	2(12.5)	5(33.3)
II 级	3(18.7)	2(13.3)
III 级	1(6.3)	1(6.7)
IV 级	10(62.5)	7(46.7)
合计	16	15

表 6 是否预防使用胃肠黏膜保护药物对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	预防用药	未预防用药
I 级	5(31.3)	—
II 级	3(18.7)	2(13.3)
III 级	1(6.3)	3(20.0)
IV 级	7(43.7)	10(66.7)
合计	16	15

2.2 胃镜观察 胃镜观察结果如表2所示: 胃镜观察时间为放疗结束至放疗后18 mo, 中位时间为3 mo。胃镜下表现为(图1): I 级胃、十二指肠黏膜正常4例; II 级轻度胃、十二指肠黏膜炎症6例, 包括为胃、十二指肠黏膜充血、水肿, 慢性萎缩性胃炎; III级糜烂性胃炎3例; IV级病变包括: 单纯胃溃疡6例, 包括胃底、胃体、胃角、胃窦溃疡以及胃多发溃疡, 胃溃疡伴胃窦变形1例; 单纯十二指肠溃疡5例, 包括十二指肠球部和十二指肠降段溃疡以及多发十二指肠溃疡, 吻合口溃疡1例, 十二指肠溃疡合并狭窄4例; 无同时合并胃、十二指肠溃疡患者, 部分患者为胃溃疡合并十二指肠球部炎症或十二指肠溃疡合并胃部炎症。所有病例均经胃镜下组织病理学活检, 符合炎症或溃疡性改变。胃镜下观察: 总病变率为87.1%, II 级病变率为19.4%, III-IV级病变率为67.8%; II 级病变一般不需要特殊诊治; III-IV级病变需药物治疗, 对于十二指肠溃疡合并狭窄的患者需行支架植入治疗。

表3-8为可能影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的因素, 在胃镜观察下的不同结果, 除外1例为肿瘤侵犯致十二指肠狭窄。观察指标主要包括放疗技术、放疗总剂量(表3), 放疗前腹部手术史(表4), 同步化疗(表5), 是否预防应用胃肠黏膜保护剂(表6), 应用氨磷汀(表7), 慢性合并症(如慢性肠病、高血压、糖尿病等)(表8)对放射性胃肠损伤的影响。

2.3 不同放疗技术治疗后胃镜观察 结果如表3所示, 其中 γ -刀放疗剂量为GTV: 45 Gy/15 f-51 Gy/17 f, 单次剂量为3 Gy; 3-D放疗剂量为CTV/GTV: 50 Gy/ 60 Gy/25 f, 单次平均剂量为CTV/GTV: 2 Gy/2.4 Gy/f; TOMO放疗CTV/GTV: 50 Gy/60 Gy/20 f, 单次平均剂量为CTV/GTV: 2.5 Gy/3 Gy/f。表3显示 γ -刀、3-D、TOMO不同技术治疗后胃镜观察结果: 3组结分别比较, γ -刀对比3-D总病变率(80.0% vs 80.0%, $P>0.0167$), III-IV级病变率(66.7% vs 40.0%, $P<0.0167$); γ -刀对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$), III-IV级病变率(66.7% vs 63.7%, $P<0.0167$); 3-D对比TOMO总病变率(80.0% vs 72.7%, $P>0.0167$), III-IV级病变率(40.0% vs 63.7%, $P<0.0167$)。

γ -刀治疗剂量51 Gy(10例), 48 Gy(3例), 45 Gy(2例), 总病变率为(90% vs 100% vs 100%), 3组结果分别比较 $P<0.0167$ 。

2.4 既往有手术史与非手术治疗史的患者胃镜观察结果对比如表4所示: 本组资料中腹部手术史为: 胰十二指肠切除术1例(胃镜检查黏膜正常), 剖腹探查术9例, 减黄术6例。表4胃镜观察结果显示: 放疗前手术组患者16例, 非手术组患者15例, 总病变率(87.5% vs 66.7%, $P>0.05$)。

2.5 同步GEM化疗与非同步化疗患者胃镜观察结果对比如表5所示: 该亚组显示同步GEM化疗方案中, GEM用量为1.0 g/m², 最高用量1.5 g, 化疗2个周期, 化疗前后均给予预防恶心、呕吐等

表 7 使用氨磷汀与不用氨磷汀对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	氨磷汀	未用氨磷汀
I 级	2(14.3)	3(17.6)
II 级	3(21.4)	2(11.8)
III 级	2(14.3)	2(11.8)
IV 级	7(50.0)	10(58.8)
合计	14	17

表 8 既往是否有慢性合并症患者对比胃镜观察结果 $n(\%)$

	有慢性合并症	无慢性合并症
I 级	3(21.4)	4(23.5)
II 级	2(14.3)	3(17.6)
III 级	1(7.1)	1(5.9)
IV 级	8(57.1)	9(52.9)
合计	14	17

■应用要点

根据胃镜观察结果对病变情况进行治疗, 同时避免误诊; 分析其影响因素, 进一步预防和治疗放射性损伤的发生发展。

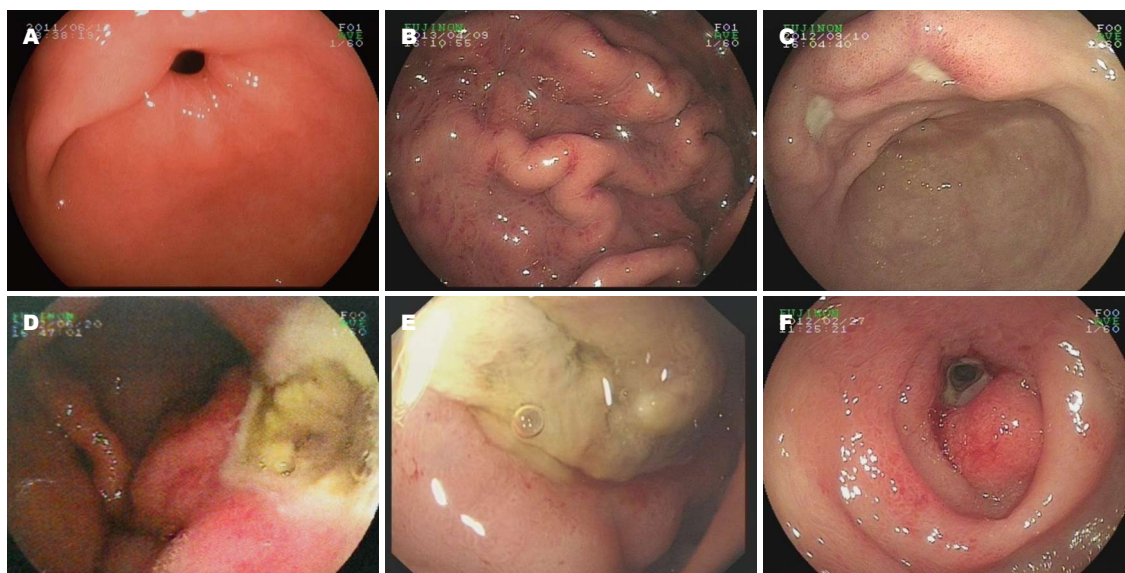


图 1 胃镜下黏膜损伤情况. A: 正常黏膜; B: 黏膜弥漫充血; C: 胃角溃疡; D: 胃体溃疡; E: 十二指肠溃疡; F: 十二指肠溃疡伴狭窄。

药物, 化疗期间出现胃肠道反应与血液学毒性反应症状, 给予对症治疗. 如表5胃镜观察结果所示: 同步GEM方案9例, 非同步GEM方案22例, 总病变率(66.7% vs 91.9%, $P>0.05$).

2.6 放疗期间是否预防应用胃肠黏膜保护药物患者胃镜观察 如表6所示, 该组患者预防使用胃肠黏膜保护药物为抑酸剂(奥美拉唑、雷贝拉唑或泮托拉唑)+胃肠黏膜保护剂(康复新液、硫糖铝或胶体果胶铋)的组合用药. 表6胃镜观察结果所示: 放疗期间预防用药16例, 放疗期间未预防用药15例, 总病变率为(68.7% vs 100%, $P=0.04$).

2.7 使用氨磷汀与未使用氨磷汀患者胃镜观察 如表7所示: 氨磷汀4 mg溶于100 mL 0.9%氯化钠溶液中, 于每次放疗前30 min静滴. 表8胃镜观察结果所示: 放疗期间使用氨磷汀14例, 放疗期间未使用氨磷汀17例, 总病变率为(85.7% vs 82.4%, $P>0.05$).

2.8 既往是否有慢性病史(慢性腹泻、高血压、糖尿病等)患者胃镜观察结果对比 慢性合并症指放疗期间合并有如慢性胃、十二指肠黏膜病

变(如炎症、溃疡)、高血压、糖尿病等慢性病史的患者, 本组资料的患者主要指高血压、糖尿病, 无慢性胃肠病患者. 表8胃镜观察结果显示: 有慢性合并症患者14例, 无慢性合并症患者17例, 总病变率为(8.6% vs 76.5%, $P>0.05$).

3 讨论

伦琴于1895年发现了X射线, 为恶性肿瘤开创了新的有效的治疗方法, 但不到2年时间就有了关于盆腹部放射治疗后发生急性胃肠道并发症的报道^[5]. 放疗可以直接通过电子能量转换辐射损伤DNA, 也可以通过间接作用产生氧自由基, 引起单链或双链DNA断裂, 阻止DNA的转录和复制, 从而导致细胞的裂解和凋亡. 放射线还可以直接破坏细胞膜, 导致细胞的裂解死亡^[6-8]. 由于细胞对放疗的敏感性取决于所处的细胞周期, 处在G₂和M期的细胞对放疗最为敏感. 因此, 增生较快的组织如小肠隐窝细胞和上皮细胞对放疗尤为敏感^[8]. 栗永萍等^[9]动物实验研究表明, 小鼠12 Gy全身照射后24 h, 小肠隐窝即出现大量

■同行评价

本文整体质量较高,具有一定指导意义。

变性坏死和凋亡细胞, 18-26 Gy则极少或全无再生隐窝出现。生理情况下, 胃肠黏膜由机械屏障、化学屏障、免疫屏障、生物屏障组成, 维持肠道正常的消化和吸收功能, 同时阻止致病微生物和毒素越过肠黏膜屏障侵入肠道, 持肠道功能、保护肠道环境^[10-13]。放疗通过直接及间接破坏各个胃肠道屏障功能^[14-17], 从而引起链式反应, 导致胃肠黏膜屏障功能障碍, 引起放射性胃肠炎。

放疗的病理学变化从放射治疗刚开始就已经发生, 但发展到组织学变化和出现临床症状可能需要几周, 几个月甚至数年^[18]。根据发病缓急及病理组织学变化, 放射性胃肠炎可分为2个阶段: (1)急性期, 发生于放疗辐射期间或放疗后3 mo内, 主要病变在黏膜层, 多表现为浆细胞和多核型粒细胞浸润、肠黏膜变薄、绒毛缩短, 毛细血管扩张, 同时由于干细胞缺失和隐窝有丝分裂的减少, 上皮细胞变性脱落, 形成隐窝微脓肿和黏膜溃疡。由于上皮细胞功能障碍, 导致营养素和水分的缺失, 临床表现为腹痛、腹胀、腹泻、黏液血便、胃肠出血等; (2)慢性期, 起始于照射后3 mo以上, 也有报道放射治疗15年之后发生放射性损伤^[19]。主要损伤黏膜下层及其脉管, 常见的组织病理学特征为进行性闭塞性脉管炎和间质纤维化。闭塞性脉管炎导致组织缺血、坏死, 淋巴管扩张, 导致小肠黏膜萎缩变薄, 肠管长期缺血坏死, 肠蠕动减弱。同时间充质细胞激活和胶原沉积导致黏膜下层致密纤维化, 小肠无规则黏连和萎缩狭窄, 肠管间正常间隙缺失, 相邻肠管黏连、融合, 改变了小肠正常解剖关系^[20]。临床表现为幽门变形狭窄、肠道狭窄、肠梗阻、肠痿等。

由于胰腺组织对射线不敏感, 其所需治疗剂量高达(50-70 Gy), 与胰腺周围组织如胃、十二指肠的最小最大耐受剂量(45-55 Gy)、(50-65 Gy)非常接近。因此, 胰腺癌放疗后的胃肠道反应发生率较高。虞晓林等^[21]报道行立体定向放疗的156例患者, 出现以恶心、呕吐为主的急性消化道反应发生率为66.67%, 少数伴腹泻。高宏等^[22]报道的112例患者接受立体定向放疗, 其中106例出现返酸、恶心、乏力、上腹部不适等情况, 胃肠道反应发生率高达94.6%。孙曙光等^[23]报道的接受立体定向放疗的患者, 治疗过程中均有不同程度恶心、呕吐等胃肠反应, 对症处理后完全缓解。3例患者于放疗后2-4 mo出现腹痛, 胃

镜检查显示存在十二指肠溃疡。张洪珍等^[24]与杨小文等^[25]也报道胃肠道反应发病率高于50%, 本组资料统计显示急性胃肠道反应发生率为71.0%, 晚期胃肠道反应发生率为85.0%, 急性期胃肠道反应发生率与文献报道相符。由于本组资料的患者多半由于出现相应胃肠道症状来院就诊并行胃镜检查, 因此晚期胃肠道反应发生率要高于文献报道。

既往由于胰腺癌放疗应用局限, 加上缺乏对放射性胃肠损伤的客观评价指标, 人们对放射性胃肠损伤关注较少。因此胃镜在胰腺癌放疗引起胃、十二指肠黏膜损伤的报道较少。Andreyev等^[26]收集的256例接受盆腔放疗后出现胃肠道症状的患者中, 经肠镜检查显示发现34%的患者与放疗无关; 12%的患者则是由于盆腔肿瘤复发引起的胃肠道反应, 只有54%的患者为放疗后引起的胃肠道反应。Pasha等^[27]应用双气囊内镜对放疗后引起的胃肠道出血进行了诊治。这也证明了胃肠镜检查在放射性胃十二指肠黏膜病变诊断和治疗中的重要作用。本组资料中31例患者通过胃镜观察胰腺癌放疗后胃、十二指肠黏膜的变化, 结果显示胃、十二指肠黏膜总病变率为87.1%, 高于单纯临床观察的急性慢性胃肠道反应率(71.0%, 85.0%); III-IV级病变21例, 病变率为67.8%, 而临床实际出现中重度(3-4级)胃肠道反应病例数及发生率: 急性期6例, 发生率19.4%, 慢性期4例, 发生率20.0%; 1例患者为肿瘤浸润致十二指肠狭窄, 引起恶心、呕吐等胃肠道症状, 发生率为3.2%。当患者出现胃肠道症状再行胃镜检查, 病变主要以III-IV病变为主, 胃镜下表现不同, 主要有胃糜烂、溃疡(胃体、胃角、胃窦等)、出血, 十二指肠溃疡(球部、降段)、狭窄等。研究表明胃镜观察到的病例数要高于临床实际就诊的患者, 部分患者虽然已形成糜烂性或溃疡性病变等, 但由于临床症状轻微, 缺乏客观的诊断依据, 从而延误治疗。部分患者虽然出现较严重的临床症状, 可能为原发肿瘤浸润或转移所致, 但由于缺乏客观诊断依据及病理学活检, 使得部分患者过度治疗胃肠道症状而延误肿瘤的诊治。因此对于胰腺癌放疗后行胃镜检查观察胃、十二指肠病变必要可行, 以便根据病变采取针对性治疗措施。胃镜检查能直接观察到胃、十二指肠黏膜的病变情况, 同时可以通过胃镜对可疑病变部位进行病理活检及细胞学检查, 以进一步明确诊断,

对于出血、梗阻也可直接进行内镜下止血、放置支架等治疗. 通过胃镜检查可以直观的观察放疗前后胃、十二指肠黏膜的变化, 对于放疗前已经存在胃、十二指肠病变的患者及时治疗, 以预防更严重的胃肠道反应发生, 使患者顺利完成放疗. 同时通过胃镜观察放疗后胃、十二指肠黏膜的变化, 分析影响放射性胃、十二指肠病变的因素.

据文献报道^[28,29]放射性胃肠炎的发生、发展与放疗的技术、剂量、放疗时程及剂量分割、患者的营养状态、是否有手术治疗及化疗等有关. Theis等^[30]也指出, 患者有并发症(高血压、糖尿病、炎症性肠病等)、吸烟、既往行腹部手术、放射治疗的总剂量以及联合化疗等因素可能影响放射性胃肠损伤的发生. 本组资料中, 对影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的因素进行单因素分析, 结果显示放疗技术、放疗剂量影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生. 3种放疗技术比较, TOMO对放射性胃、十二指肠黏膜损伤的程度最小, 而3-D引起的放射性胃、十二指肠黏膜损伤程度最大. 本研究对比了 γ -刀不同剂量放疗后胃、十二指肠黏膜变化, 结果显示随着放疗剂量的增加, 胃、十二指肠黏膜损伤发生率增高, 差异有统计学意义. 根据本资料显示, 由于腹部手术史包括胰十二指肠切除术、剖腹探查术和胆肠吻合的减黄术, 由于胰十二指肠切除术后, 胃肠解剖结构改变, 放疗后胃肠黏膜损伤与剖腹探查术胃镜观察结果可能存在差异, 但目前鲜见相关文献报道, 本资料中胰十二指肠切除患者1例, 胃镜观察放疗后胃、十二指肠黏膜正常, 预防使用胃肠黏膜保护药物可以减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生, 差异有统计学意义; 本组结果表明放疗期间使用氨磷汀并没有减少放射性胃、十二指肠黏膜损伤的发生, 由于本组资料为回顾性分析, 存在一定的资料偏差, 且样本量较小, 有一定局限性, 因此尚需要多中心、大样本量的临床资料观察放疗引起的胃、十二指肠黏膜损伤情况并分析影响放射性胃、十二指肠黏膜损伤发生的因素, 为胃、十二指肠道黏膜损伤的预防和治疗提供依据.

4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

- 2 张思维, 陈万青, 郑荣寿, 李霓, 曾红梅, 李光琳, 魏文强, 赵平. 2003-2007年中国癌症死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 171-178
- 3 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
- 4 谷铎之, 殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2009: 1-2, 222
- 5 Walsh D. Deep Tissue Traumatism from Roentgen Ray Exposure. *Br Med J* 1897; 2: 272-273 [PMID: 20757183]
- 6 Hall EJ. Radiobiology for the radiologist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 165-167
- 7 Bismar MM, Sinicrope FA. Radiation enteritis. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 361-365 [PMID: 12228037 DOI: 10.1007/s11894-002-0005-3]
- 8 Nguyen NP, Antoine JE, Dutta S, Karlsson U, Sallah S. Current concepts in radiation enteritis and implications for future clinical trials. *Cancer* 2002; 95: 1151-1163 [PMID: 12209703 DOI: 10.1002/cncr.10766]
- 9 栗永萍, 程天民. 放射损伤及放烧复合伤对小肠上皮损害的量效研究. *第三军医大学学报* 1994; 16: 313-315
- 10 Liboni KC, Li N, Scumpia PO, Neu J. Glutamine modulates LPS-induced IL-8 production through I κ B/NF- κ B in human fetal and adult intestinal epithelium. *J Nutr* 2005; 135: 245-251 [PMID: 15671221]
- 11 马涛, 尤胜义. 淋巴细胞凋亡, 免疫抑制和脓毒症. *国外医学·外科学分册* 2005; 32: 35-38
- 12 Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut* 2006; 55: 1512-1520 [PMID: 16966705 DOI: 10.1136/gut.2005.085373]
- 13 Barrett KE. New ways of thinking about (and teaching about) intestinal epithelial function. *Adv Physiol Educ* 2008; 32: 25-34 [PMID: 18334565 DOI: 10.1152/advan.00092.2007]
- 14 杨书良, 李兰梅, 陈育民. 肠黏膜屏障的构成与功能研究进展. *临床荟萃* 2008; 23: 1809-1811
- 15 Freeman SL, MacNaughton WK. Ionizing radiation induces iNOS2 mediated epithelial dysfunction in the absence of an inflammatory response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278: 243-250
- 16 Freeman SL, MacNaughton WK. Nitric oxide inhibitable isoforms of adenylate cyclase mediate epithelial secretory dysfunction following exposure to ionising radiation. *Gut* 2004; 53: 214-221 [PMID: 14724153]
- 17 高金生, 时志民, 韩转叶, 李校天, 杨书良. 肝硬化肠黏膜屏障损伤患者血浆D-乳酸、二胺氧化酶及内毒素的变化. *临床荟萃* 2009; 24: 219-221
- 18 Stone HB, Coleman CN, Anscher MS, McBride WH. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol* 2003; 4: 529-536 [PMID: 12965273]
- 19 Galland RB, Spencer J. The natural history of clinically established radiation enteritis. *Lancet* 1985; 1: 1257-1258 [PMID: 2860452 DOI: 10.1016/S0140-6736(85)92322-0]
- 20 朱化强, 代文杰. 腹茧症的外科诊治现状. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 375-377
- 21 虞晓林, 罗卫华, 李昌林, 蒙荣钦, 张光宇, 王阳, 周国

- 懿. 体部伽玛刀治疗中晚期胰腺癌156例临床疗效观察. 现代肿瘤医学 2011; 19: 1379-1380
- 22 高宏, 张虹, 邵秋菊, 吴淑娟, 梁军. 立体定向放射治疗胰腺癌112例疗效观察. 现代肿瘤医学 2010; 18: 112-113
- 23 孙曙光, 刘菲. X线立体定向放射治疗胰腺癌38例. 现代诊断与治疗 2005; 16: 208-209
- 24 张洪珍. 胰腺癌放射治疗. 国际肿瘤学杂志 2006; 33: 147-150
- 25 杨小文, 朱惠东, 孙杨安. 125碘粒子近距离治疗晚期胰腺癌12例疗效分析. 实用癌症杂志 2008; 23: 645-649
- 26 Andreyev HJ, Vlavianos P, Blake P, Dearnaley D, Norman AR, Tait D. Gastrointestinal symptoms after pelvic radiotherapy: role for the gastroenterologist? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 1464-1471 [PMID: 15927411 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2004.12.087]
- 27 Pasha SF, Harrison ME, Leighton JA. Obscure GI bleeding secondary to radiation enteritis diagnosed and successfully treated with retrograde double-balloon enteroscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 552-554 [PMID: 17321268 DOI: 10.1016/j.gie.2006.10.007]
- 28 Chon BH, Loeffler JS. The effect of nonmalignant systemic disease on tolerance to radiation therapy. *Oncologist* 2002; 7: 136-143 [PMID: 11961197 DOI: 10.1634/theoncologist.7-2-136]
- 29 Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R, German Rectal Cancer Study Group. Pre-operative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 1731-1740 [PMID: 15496622 DOI: 10.1056/NEJMoa040694]
- 30 Theis VS, Sripadam R, Ramani V, Lal S. Chronic radiation enteritis. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2010; 22: 70-83 [PMID: 19897345 DOI: 10.1016/j.clon.2009.10.003]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍, 江苏省扬州市苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

陈洁, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由陈洁与朱海杭设计; 样本采集由徐永居完成; 研究过程由陈洁、顾湘及朱萍共同操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由朱萍提供; 数据分析由陈洁完成; 本论文写作由陈洁与朱海杭完成。

通讯作者: 朱海杭, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 225001, 江苏省扬州市南通西路98号, 江苏省苏北人民医院消化内科。
zhuhaishang@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-04-25 修回日期: 2013-06-27

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucose gastritis and gastric cancer

Jie Chen, Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Xiang Gu, Ping Zhu

Jie Chen, Hai-Hang Zhu, Yong-Ju Xu, Xiang Gu, Ping Zhu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hai-Hang Zhu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, 98 Nantong West Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. zhuhaishang@medmail.com.cn

Received: 2013-04-25 Revised: 2013-06-27

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between verrucose gastritis and gastric cancer.

METHODS: The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and kinase insert domain-containing receptor (KDR) in chronic superficial gastritis, verrucose gastritis and gastric cancer was detected by immunohistochemistry. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection was detected by the ¹³C breath test.

RESULTS: The rates of *H. pylori* infection in patients with verrucose gastritis and gastric cancer were both higher than that in patients with chronic superficial gastritis ($\chi^2 = 26.4, 29.697$, both $P < 0.01$), but there was no significant difference

in the rate of *H. pylori* infection between patients with verrucose gastritis and those with gastric cancer ($\chi^2 = 2.229, P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression in verrucose gastritis and gastric cancer were significantly higher than those in chronic superficial gastritis ($\chi^2 = 20.008, 29.697; 15.428, 24.300$, all $P < 0.01$), but there were no significant differences in the positive rates of VEGF and KDR expression between verrucose gastritis and gastric cancer ($\chi^2 = 3.461, 3.793$, both $P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression in mature verrucose gastritis were significantly higher than those in non-mature verrucose gastritis ($\chi^2 = 6.084, 10.026$, both $P < 0.05$), but there were no significant differences between matured verrucose gastritis and gastric cancer ($\chi^2 = 0.728, 0.080$, both $P > 0.05$). The positive rates of VEGF and KDR expression were significantly higher in verrucose gastritis patients with *H. pylori* infection than in those without *H. pylori* infection ($\chi^2 = 5.637, 5.398$, both $P < 0.05$), but there were no significant differences between verrucose gastritis patients with *H. pylori* infection and patients with gastric cancer ($\chi^2 = 0.839, 1.006$, both $P > 0.05$).

CONCLUSION: *H. pylori* infection is involved in the formation of verrucose gastritis. Expression of VEGF and KDR in verrucose gastritis is similar to that in gastric cancer, suggesting that both VEGF and KDR may be involved in the evolution of verrucose gastritis to gastric cancer. The observation that expression of VEGF and KDR in mature verrucose gastritis and patients with *H. pylori* infection was higher may imply that mature verrucose gastritis and *H. pylori* infection increase the risk of malignant transformation of verrucose gastritis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factor; Kinase insert domain-containing receptor; Verrucose gastritis; Gastric cancer

Chen J, Zhu HH, Xu YJ, Gu X, Zhu P. Expression of

■背景资料

疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)是临床上较为常见的一种特殊类型的慢性胃炎,尽管在第十届世界胃肠病大会上, VG已被列为具有高度癌变倾向的疾病之一,但临床上确切观察到疣状胃炎转化为胃癌的病例相对较少,仅见个案报道,缺乏大规模的动态随访观察,缺乏相关基因改变的基础研究证据,其癌变诱因及分子机制尚不明确。

■同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科

■ 研发前沿

目前针对VG的研究和报道主要局限在临床治疗方面, 尽管已经有临床报道观察到其癌变的过程, 但由于缺乏大规模的随访观察及分子生物学的基础研究支持, 对于其癌变的可能并没有引起广大临床医师的重视。

vascular endothelial growth factor and its receptor KDR in verrucose gastritis and gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(21): 2031-2037 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2031.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2031>

摘要

目的: 研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体2(kinase insert domain-containing receptor, KDR)在疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)与胃癌中的表达的关系。

方法: 用免疫组织化学方法检测30例慢性浅表性胃炎、80例VG和30例胃癌组织中VEGF和KDR的表达; 通过 ^{13}C 呼气试验判断所有入组患者有无幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染。

结果: VG、胃癌患者的*H. pylori*感染率显著高于慢性浅表性胃炎患者($\chi^2 = 26.4$, 29.697; $P < 0.01$), 而两者之间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.229$, $P > 0.05$)。VG和胃癌组织中VEGF和KDR的表达与慢性浅表性胃炎组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 20.008$, 29.697; 15.428, 24.300, $P < 0.01$); VEGF和KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达差异无统计学意义($\chi^2 = 3.461$, 3.793; $P > 0.05$); 成熟型的疣状胃炎组织中VEGF和KDR的表达与非成熟型的疣状胃炎比较差异有统计学意义($\chi^2 = 6.084$, 10.026; $P < 0.05$), 而与胃癌组织比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.728$, 0.080; $P > 0.05$); *H. pylori* + 的疣状胃炎组织中VEGF和KDR的表达与*H. pylori* - 的疣状胃炎组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 5.637$, 5.398; $P < 0.05$), 而与胃癌组织比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.839$, 1.006; $P > 0.05$)。

结论: *H. pylori*参与了VG的形成过程。VEGF和KDR在疣状胃炎中的表达与在胃癌中的表达相似, 提示VG与胃癌之间可能存在相关性, VEGF和KDR可能参与了疣状胃炎癌变的过程。VEGF和KDR在成熟型和*H. pylori* + 的疣状胃炎中的高表达提示成熟型的VG和*H. pylori*感染可能存在增加VG癌变的风险。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管内皮生长因子; 血管内皮生长因子受体; 疣状胃炎; 胃癌

核心提示: 疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)是胃癌的癌前病变之一, 具有癌变的潜能。成熟型的

VG更易癌变。幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)感染是形成疣状胃炎的重要因素之一, 并且可能是诱发其癌变的诱因之一。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)和血管内皮生长因子受体2(kinase insert domain-containing receptor)的异常表达, 新生血管的异常增生可能是其癌变的分子机制之一。

陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍. 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2031-2037 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2031.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2031>

0 引言

疣状胃炎(verrucose gastritis, VG)又称痘疹状胃炎(varioliform gastritis)、慢性糜烂性胃炎(chronic erosive gastritis), 是胃炎的一种特殊类型, 内镜下分为成熟型和未成熟型两型。尽管在第十届世界胃肠病大会上, VG已被列为具有高度癌变倾向的疾病之一^[1], 但临床上确切观察到疣状胃炎转化为胃癌的病例相对较少, 缺乏相关基因改变的基础研究证据, 其癌变的诱因及分子机制尚不明确, 未能引起广大临床医师的重视。本实验通过研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体2(kinase insert domain-containing receptor, KDR)在疣状胃炎和胃癌组织中的表达, 探讨疣状胃炎和胃癌的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2012-03我院内镜中心收集的慢性浅表性胃炎标本30例, 成熟型和未成熟型疣状胃炎标本各40例, 胃癌组织标本30例。所有病例均为首次发现, 未经过质子泵抑制剂及抗幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗。主要试剂为即用型血管内皮生长因子兔抗人多克隆抗体, 购自福建迈新生物技术开发有限公司; KDR兔抗人多克隆抗体, 购自武汉博士德生物工程有限公司; 即用型快速免疫组织化学MaxVision™试剂盒(兔)和DAB显色试剂盒均购自福建迈新生物技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验: 所有入组患者行 ^{13}C 呼气试验, 所有标本均经过4%甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片, 免疫组织化学法采用EliVision法。操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。DAB显色, 苏木

表 1 比较3组不同组织中*H. pylori*的表达

分组	<i>n</i>	<i>H. pylori</i>		χ^2	<i>P</i> 值
		+	-		
慢性浅表性胃炎组	30	3	27	26.4	0.000
疣状胃炎组	80	52 ^b	28 ^b	2.229	0.129
胃癌组	30	24 ^b	6 ^b	29.697	0.000

^b*P*<0.01 vs 慢性浅表性胃炎组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 2 比较3组不同组织中VEGF和KDR的表达

分组	<i>n</i>	VEGF		<i>P</i> 值	KDR		<i>P</i> 值
		+	-		+	-	
慢性浅表性胃炎	30	2	28	0.000	1	29	0.000
疣状胃炎	80	43 ^b	37 ^b	0.063	34 ^d	46 ^d	0.051
胃癌	30	22 ^b	8 ^b	0.000	19 ^d	11 ^d	0.000

^b*P*<0.01, ^d*P*<0.01 vs 慢性浅表性胃炎组. VEGF: 血管内皮生长因子; KDR: 血管内皮生长因子受体2.

精复染, PBS代替一抗做阴性对照.

1.2.2 结果判定: (1)*H. pylori*的诊断, 通常以30 min时样品中所测¹³C-CO₂的 $\delta\%$ 减去零时的呼气样品的 $\delta\%$ 值的差表示, 即检测值 = $\delta\%(30 \text{ min}) - \delta\%(0 \text{ min})$. 阳性判断值 $\geq 4.0 \pm 0.4$ 时, 可判定受试者为*H. pylori*+; (2)VEGF和KDR均表达于均表达于血管内皮细胞和腺上皮细胞的胞浆中和细胞膜上. 免疫组织化学染色结果判定采用Remmele和Stegner提出的免疫反应积分(immune response scores, IRS)打分法, 是染色强度(staining intensity, SI)和阳性细胞百分比(percentage of positive cells, PP)的乘积, 即 $IRS = SI \times PP$. SI可分为4级, 即0级为未见阳性细胞, 1级为弱阳性, 2级为中等阳性, 3级为强阳性. PP可分为5级, 即0级为阴性, 1级 $\leq 10\%$, 2级11%-50%; 3级51%-80%, 4级 $>80\%$. 当SI与PP的乘积 >3 分才算免疫反应(+)^[2].

统计学处理 采用一般描述性统计分析、 χ^2 检验、Spearman等级相关性分析. 数据库构建及数据分析均在SPSS17.0统计软件包上实现, 检验标准为*P*<0.05有统计学意义.

2 结果

慢性浅表性胃炎、疣状胃炎、胃癌患者*H. pylori*感染率分别为10%、65%、80%, 比例依次增

表 3 比较不同类型疣状胃炎之间VEGF和KDR的表达及与胃癌的关系

	<i>n</i>	VEGF		<i>P</i> 值	KDR		<i>P</i> 值
		+	-		+	-	
疣状胃炎组							
未成熟型	40	16 ^b	24 ^b	0.014	10 ^d	30 ^d	0.002
成熟型	40	27	13		24	16	
<i>H. pylori</i> -	28	10 ^b	18 ^b	0.018	7 ^d	21 ^d	0.020
<i>H. pylori</i> +	52	33	19		27	25	
胃癌组	30	22	8	^b <i>P</i> <0.01	19	11	^d <i>P</i> <0.01

^b*P*<0.01, ^d*P*<0.01 vs 胃癌组. VEGF: 血管内皮生长因子; KDR: 血管内皮生长因子受体2.

高. 疣状胃炎患者的*H. pylori*感染率与慢性浅表性胃炎患者比较有显著差异(*P*<0.01), 与胃癌患者相比无明显差异(*P*>0.05)(表1).

疣状胃炎组及胃癌组VEGF和KDR的表达阳性率与慢性浅表性胃炎组比较差异有统计学意义(*P*<0.01); 疣状胃炎组和胃癌组VEGF和KDR的表达阳性率比较差异无统计学意义(*P*>0.05)(表2).

未成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与成熟型疣状胃炎及胃癌组比较差异有统计学意义(*P*<0.05), 而成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异无统计学意义(*P*>0.05), 未成熟型疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

H. pylori-疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与*H. pylori*+疣状胃炎及胃癌组比较差异有统计学意义(*P*<0.05), 而*H. pylori*+疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异无统计学意义(*P*>0.05), *H. pylori*-疣状胃炎中VEGF和KDR的表达阳性率与胃癌组比较差异有统计学意义(*P*<0.05). 疣状胃炎中*H. pylori*的感染与VEGF的表达呈正相关($r = 0.265, P < 0.05$), 与KDR的表达呈正相关($r = 0.26, P < 0.05$)(表3).

VEGF和KDR主要表达于腺上皮细胞及血管内皮细胞的胞浆及细胞膜中. VEGF分别在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率依次为: 6.7%、40%、67.5%、73.3%, 比例依次增高(图1); KDR分别在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率依次为: 3.33%、42.5%、60%、63.3%, 比例依次增高(图2).

■创新盘点

本实验通过研究幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染以及VEGF和KDR在VG和胃癌组织中的表达, 对照慢性浅表性胃炎比较, 探讨VG、胃癌之间的关系及其可能存在的癌变的分子机制, 为将来VG的研究提供方向, 为VG及胃癌的预防与治疗提供更多的依据.

■应用要点

本文旨在加强临床医生对疣状胃炎治疗时抗*H. pylori*治疗的意识, 加强动态内镜随访观察.

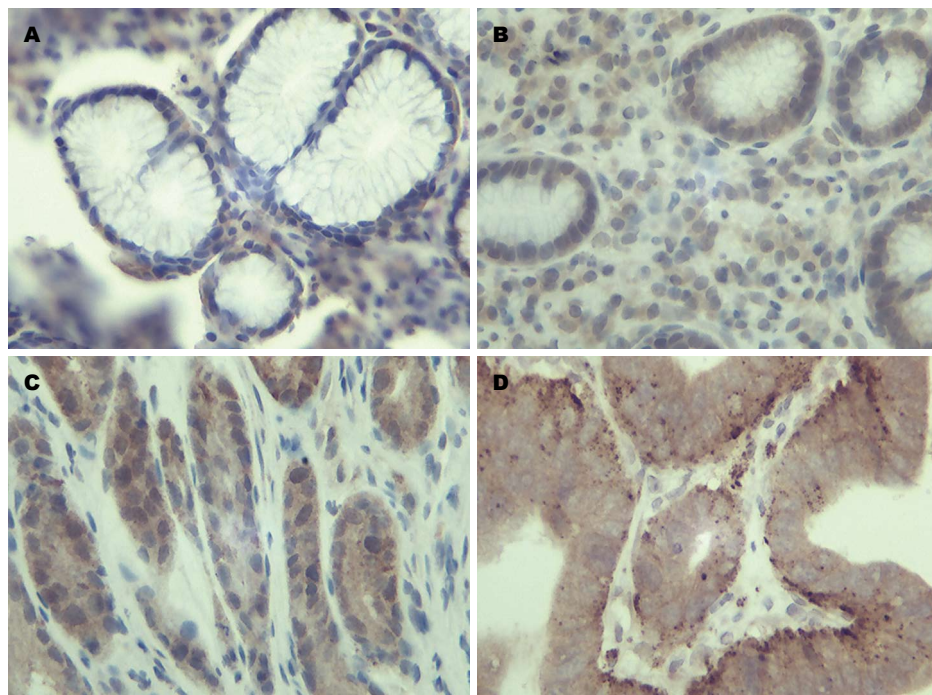


图1 VEGF的表达($\times 400$). A: 慢性浅表性胃炎; B: 未成熟型疣状胃炎; C: 成熟型疣状胃炎; D: 胃癌. VEGF: 血管内皮生长因子.

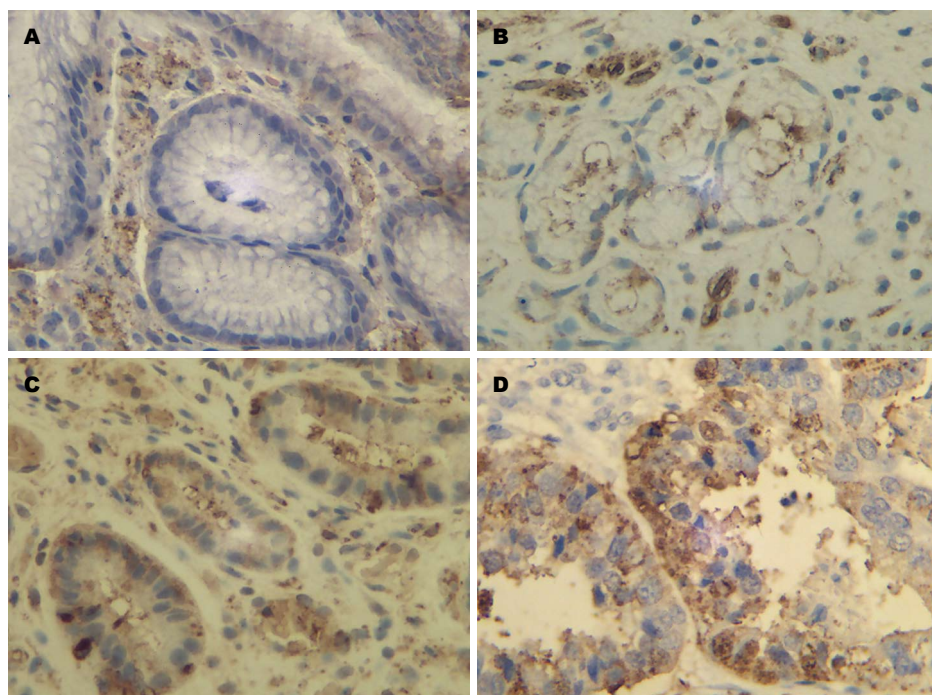


图2 KDR的表达($\times 400$). A: 慢性浅表性胃炎; B: 未成熟型疣状胃炎; C: 成熟型疣状胃炎; D: 胃癌. KDR: 血管内皮生长因子受体2.

3 讨论

胃癌的形成和发展是多病因、多基因作用的结果, 过程复杂, 至今未能完全明了. 早在1994年世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)已经将*H. pylori*感染作为胃癌的I类致病因

子, 很多研究已经证明其*H. pylori*感染与胃癌的发生密切相关^[3-7]. 随着对疣状胃炎关注的增加, 陆续出现针对VG和*H. pylori*关系的报道. 如周殿元等^[8]报道VG患者的*H. pylori*感染率为51.7%-92.5%, 说明疣状胃炎多数伴有*H. pylori*感染. 白歌等^[9]观察到大部分病例经抗*H. pylori*

治疗, 临床症状消失, 说明疣状胃炎治疗效果与清除*H. pylori*呈正相关, 同时也进一步支持*H. pylori*与疣状胃炎关系密切的观点。并且李庭赞等^[10]提出疣状胃炎尤其是成熟型疣状胃炎的胃黏膜肠上皮化生的发生率及上皮内瘤变的发生率高于对照组, 说明疣状胃炎有癌变倾向。

基于以上基础, 本研究观察到疣状胃炎的*H. pylori*感染率为65%, 较慢性浅表性胃炎*H. pylori*感染显著升高, 提示与慢性浅表性胃炎相比, *H. pylori*感染在疣状胃炎的形成过程中起重要作用, 是其发病的一个重要致病因素。其机制可能是*H. pylori*在胃内定植后, 由于其具有螺旋状的体形以及多根鞭毛产生动力, 穿过胃表面黏液屏障, 定居在胃黏膜上皮细胞的表面, 通过释放一些致病因子, 使胃黏膜发生损伤、充血、水肿、局部隆起增生、点状坏死、片状糜烂等病理改变, 亦可能使胃黏膜对*H. pylori*产生免疫反应进一步引起糜烂处的黏膜腺管及腺体数增加和腺颈部延长, 从而形成周边隆起中央脐样糜烂坏死凹陷的疣状物。但其确切的机制有待进一步研究。与胃癌的*H. pylori*感染率比较无显著差异性, 得出两点推论: (1)是否能够因此推断疣状胃炎具有癌变的潜能, 是癌前的一种病理形态; (2)除了*H. pylori*感染, 尚有其他未知因素促使疣状胃炎进展为胃癌。

但作为实体瘤, 与肿瘤的血管生成关系密切是毋庸置疑的^[11]。VEGF是目前公认的最强力、最能够直接刺激血管内皮细胞产生增殖效应及促进新生血管生成的因子^[12]。其生物学效应的实现主要通过与其受体KDR结合后产生^[13]。二者结合后通过一系列的调节机制, 启动新生血管的生成, 促使血管内皮细胞大量增殖, 诱导新生血管的形成, 并且增加血管通透性, 导致肿瘤细胞逐渐生长、渗出及扩散转移^[14,15]。

VEGF又称血管通透因子, 他是内皮细胞具有显著特异性的有丝分裂源, 也是一种有效的促进新生血管形成和通透性增加的诱导因子。与受体结合后, 可增加细胞内 Ca^{2+} 浓度, 通过磷酸肌醇特异性的磷脂酶C途径, 使细胞内的IP3水平增高从而传导细胞内信号, 进而改变细胞形态、促进细胞进行有丝分裂、进一步构建迁移新生血管^[16]。还能增强血浆酶原活化因子的生物学活性, 从而使血浆酶原活化因子以及血浆酶原活化因子抑制因子的水平发生增长, 通过这两个因子的活化, 诱导基质胶原酶、蛋白

水解酶和组织因子在血管内皮细胞中充分表达, 从而逐步出现细胞外基质降解, 内皮细胞发生迁移和浸润, 新生血管逐渐形成^[17]。KDR是VEGF发挥其促血管生成作用的高亲和力的特异性膜受体, 具有明显的趋化性和促分裂活性。KDR主要分布在血管内皮细胞上, 起着趋化细胞分裂、诱导内皮细胞增殖和迁移的作用。并能通过阻止内皮细胞的凋亡, 维持内皮细胞的存活。VEGF/KDR对肿瘤新生血管的生成影响极为重要, 大量研究均证实这一观点^[18-23]。其在胃癌组织中的表达也得到了较多关注^[24-27], 认为VEGF及其受体KDR的异常表达在促使胃癌的形成、浸润和扩散转移的过程中起重要作用。国外研究^[28,29]甚至提出VEGF不仅能促进肿瘤的新生血管形成, 还能通过旁分泌和胃癌细胞自分泌两种途径来实现促进胃癌的形成和转移的作用。另外Boocock等^[16]还发现VEGF可以通过激活肿瘤细胞上的KDR受体, 直接促进肿瘤的生长。高岩等^[30]研究发现KDR在维持癌细胞生长过程中发挥重要作用。

本研究显示: VEGF和KDR在慢性浅表性胃炎、未成熟型疣状胃炎、成熟型疣状胃炎、胃癌中的表达阳性率比例依次增高。VEGF和KDR在慢性浅表性胃炎中已有表达, 在疣状胃炎和胃癌中表达呈现递增趋势, 说明在胃癌形成之前, 已有新生血管的形成, 随着新生血管的增加, 细胞癌变的几率越高, 癌变与血管形成有显著关系。因此血管生成可以作为判断疣状胃炎发生发展及癌变的重要因素之一。VEGF和KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$), 但与慢性浅表性胃炎比较差异有统计学意义($P<0.01$)。表明疣状胃炎中已经有VEGF和KDR的高表达, 具有发展为胃癌的可能。本实验还发现: VEGF及KDR在成熟型疣状胃炎中阳性表达率显著高于未成熟型疣状胃炎($P<0.05$), 而与胃癌比较差异无统计学意义($P>0.05$)。同时, 其在伴随*H. pylori*感染的疣状胃炎中阳性表达率显著高于无*H. pylori*感染的疣状胃炎($P<0.05$), 而与胃癌比较差异无统计学意义($P>0.05$)。提示成熟型疣状胃炎及伴随*H. pylori*感染的疣状胃炎可能更易转化为胃癌。*H. pylori*感染可能为疣状胃炎转变为胃癌的诱发因素。研究结果还表明, *H. pylori*的感染与VEGF及KDR表达呈明显正相关($r = 0.265, 0.26, P<0.05$), 说明在疣状胃炎的癌变过程中, 血管生成与

同行评价

本文对内镜工作者及临床医生针对VG的治疗有较好的借鉴意义。

*pylori*感染起协同作用, 共同促进疣状胃炎的发生发展及癌变, 其具体机制有待进一步研究。

总之, 通过本实验, 可以认为疣状胃炎是胃癌的癌前病变, 具有癌变的潜能。而成熟型及*H. pylori*的疣状胃炎可能更易转化为胃癌。*H. pylori*感染可能是疣状胃炎癌变的诱因之一。VEGF和KDR的高表达可能是其分子机制之一。故而在针对疣状胃炎的治疗时需要加强抗*H. pylori*治疗意识, 加强动态内镜随访观察。

4 参考文献

- 樊代明, 陈强. 第十届世界胃肠病学大会报道. 中华消化杂志 1995; 15: 171
- Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-3647 [PMID: 8252480 DOI: 10.1002/1097-0142(19931215)72: 12<3641]
- Conteduca V, Sansonno D, Lauletta G, Russi S, Ingravallo G, Dammacco F. *H. pylori* infection and gastric cancer: state of the art (review). *Int J Oncol* 2013; 42: 5-18 [PMID: 23165522 DOI: 10.3892/ijo.2012.1701]
- Pimentel-Nunes P, Gonçalves N, Boal-Carvalho I, Afonso L, Lopes P, Roncon-Albuquerque R, Henrique R, Moreira-Dias L, Leite-Moreira AF, Dinis-Ribeiro M. *Helicobacter pylori* induces increased expression of Toll-like receptors and decreased Toll-interacting protein in gastric mucosa that persists throughout gastric carcinogenesis. *Helicobacter* 2013; 18: 22-32 [PMID: 23061653 DOI: 10.1111/hel.12008]
- Uehara T, Ma D, Yao Y, Lynch JP, Morales K, Ziober A, Feldman M, Ota H, Sepulveda AR. *H. pylori* infection is associated with DNA damage of Lgr5-positive epithelial stem cells in the stomach of patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 140-149 [PMID: 22945475 DOI: 10.1007/s10620-012-2360-8]
- Huang LM, Cheng Y, Yu DK, Zhai K, Tan W, Lin DX. [Association between HLA-DQA1 gene copy number polymorphisms and susceptibility to gastric cancer]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2012; 34: 269-271 [PMID: 22781038 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766]
- Ly SY, Yoo SD, Chun SK. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in preliminary stage gastric cancer cells. *Pathology* 2012; 44: 251-254 [PMID: 22186672 DOI: 10.1097/PAT.0b013e32834e3395]
- 周殿元, 张万岱, 王继德, 徐克强. 中华医学会第二届全国幽门螺杆菌专题学术研讨会纪要. 中华消化杂志 1997; 17: 286-287
- 白歌, 胡伏莲. 疣状胃炎与幽门螺杆菌的关系及其治疗的研究. 中国内镜杂志 1997; 3: 14-15, 18
- 李庭赞, 陈志坦, 朱晓蕾, 颜兆寰, 孙希芹, 周艳, 刘冬冬. 对疣状胃炎与幽门螺旋杆菌的关系及临床对策的探讨. 临床和实验医学杂志 2009; 8: 9-11, 13
- Gunningham SP, Currie MJ, Han C, Robinson BA, Scott PA, Harris AL, Fox SB. The short form of the alternatively spliced flt-4 but not its ligand vascular endothelial growth factor C is related to lymph node metastasis in human breast cancers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4278-4286 [PMID: 11106244]
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257 [PMID: 11001068 DOI: 10.1038/35025220]
- Zolota V, Tsamandas AC, Aroukatos P, Panagiotopoulos V, Maraziotis T, Poulos C, Scopa CD. Expression of cell cycle inhibitors p21, p27, p14 and p16 in gliomas. Correlation with classic prognostic factors and patients' outcome. *Neuropathology* 2008; 28: 35-42 [PMID: 18181833 DOI: 10.1111/j.1440-1789.2007.00844.x]
- Du JR, Jiang Y, Zhang YM, Fu H. Vascular endothelial growth factor and microvascular density in esophageal and gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1604-1606 [PMID: 12854174]
- Ren J, Dong L, Xu CB, Pan BR. The role of KDR in the interactions between human gastric carcinoma cell and vascular endothelial cell. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 596-601 [PMID: 12174363]
- Boocock CA, Charnock-Jones DS, Sharkey AM, McLaren J, Barker PJ, Wright KA, Twentymen PR, Smith SK. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 506-516 [PMID: 7707437]
- Iruela-Arispe ML, Dvorak HF. Angiogenesis: a dynamic balance of stimulators and inhibitors. *Thromb Haemost* 1997; 78: 672-677 [PMID: 9198237]
- Hayashibara T, Yamada Y, Miyanishi T, Mori H, Joh T, Maeda T, Mori N, Maita T, Kamihira S, Tomonaga M. Vascular endothelial growth factor and cellular chemotaxis: a possible autocrine pathway in adult T-cell leukemia cell invasion. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2719-2726 [PMID: 11555584]
- von Marschall Z, Cramer T, Höcker M, Burde R, Plath T, Schirner M, Heidenreich R, Breier G, Riecken EO, Wiedenmann B, Rosewicz S. De novo expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer: evidence for an autocrine mitogenic loop. *Gastroenterology* 2000; 119: 1358-1372 [PMID: 11054395 DOI: 10.1053/gast.2000.19578]
- de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P, Baak JP. Expression of growth factors, growth inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. I: An inventory in search of autocrine and paracrine loops. *J Pathol* 1998; 184: 44-52 [PMID: 9582526]
- Meister B, Grünebach F, Bautz F, Brugger W, Fink FM, Kanz L, Möhle R. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1999; 35: 445-449 [PMID: 10448297 DOI: 10.1016/S0959-8049(98)00387-6]
- Masood R, Cai J, Zheng T, Smith DL, Hinton DR, Gill PS. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an autocrine growth factor for VEGF receptor-positive human tumors. *Blood* 2001; 98: 1904-1913 [PMID: 11535528 DOI: 10.1182/blood.V98.6.1904]
- Takahama M, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Kido A, Sakitani H, Iki K, Taniguchi S, Kitamura S, Konishi Y. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors during lung carcinogenesis by N-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in rats. *Mol Carcinog* 1999; 24: 287-293 [PMID: 10326865 DOI: 10.1002/(SICI)1098-2744(199904)24: 4<287::AID-MC6>3.0.CO;2-T]
- 刘东屏, 王炳元, 姜若兰. 胃癌组织内血管内皮生长因子及其受体flt、KDRmRNA的表达. 中华消化杂志 2000; 20: 252-254
- 张频, 狄建忠, 郭明高, 汪昱. 内分泌源性血管内皮生

- 长因子表达对胃癌侵袭性的影响. 中国现代医学杂志 2006; 16: 3381-3383, 3387
- 26 Ding S, Lin S, Dong X, Yang X, Qu H, Huang S, Liu W, Zhou L, Liu D. Potential prognostic value of circulating levels of vascular endothelial growth factor-A in patients with gastric cancer. *In Vivo* 2005; 19: 793-795 [PMID: 15999551]
- 27 Zhang H, Wu J, Meng L, Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 994-998 [PMID: 12439912]
- 28 Liu DP, Wang BY, Jiang RL. Expression of VEGF and its receptors Flt and KDR in gastric cancer. *Chinese Journal of Digestive Diseases* 2001, 2: 171-173 [DOI: 10.1046/j.1443-9573.2001.00032.x]
- 29 Tian X, Song S, Wu J, Meng L, Dong Z, Shou C. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 505-512 [PMID: 11511087 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5409]
- 30 高岩, 钟志红, 刘志辉, 王欣彦, 王郡, 王敏, 张淑兰. KDR蛋白在卵巢浆液性肿瘤组织中的表达及临床意义. *肿瘤预防与治疗* 2008; 21: 365-367, 380, 493

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性

吴军卫, 李 潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群

■背景资料

*RASSF1A*是一个新型的抑癌基因, 是属于RASSF1家族(Ras association domain family 1)(RASSF1A-RASSF1H)的一个亚型, 位于染色体3p21.3区域, 编码由340个氨基酸组成的蛋白质。最先因其在人肺癌中常有纯合型缺失而被发现并被Dammann等克隆出来。其失活可以导致多种恶性肿瘤的发生, 其失活方式有突变、杂合性缺失、纯合型缺失及启动子甲基化, 其中以启动子甲基化最为常见。*RASSF1A*作为抑癌基因, 可通过多种不同的途径如促进细胞凋亡、调节染色体和微管的稳定性和调控细胞周期等发挥作用。

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

吴军卫, 李 潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

吴军卫, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此论题由柴新群与吴军卫设计; 数据分析由李潼、李锦锦及孟元普完成; 本论文写作由吴军卫与柴新群完成。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070059

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-04-27 修回日期: 2013-06-08

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma

Jun-Wei Wu, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng, Xin-Qun Chai

Jun-Wei Wu, Tong Li, Jin-Jin Li, Yuan-Pu Meng, Xin-Qun Chai, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070059

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-04-27 Revised: 2013-06-08

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To detect the expression of RASSF1A and CyclinA2 in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) and to analyze their relationship with the biological behavior of ICC.

METHODS: Thirty ICC specimens and 18 tumor-adjacent tissue specimens were collected from January 2010 to September 2011 in Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology. The expression of RASSF1A and CyclinA2 in these specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of RASSF1A and CyclinA2 and clinicopathologic parameters of ICC was then analyzed.

RESULTS: The positive rate of expression of RASSF1A in ICC was significantly lower than that in tumor-adjacent tissue (36.67% vs 83.33%, $P < 0.05$), while the positive rate of expression of Cyclin A2 in ICC was significantly higher than that in tumor-adjacent tissue (73.33% vs 11.11%, $P < 0.05$). There was a negative correlation between the expression of RASSF1A and that of Cyclin A2 in ICC ($P < 0.01$, $r = 0.54$).

CONCLUSION: RASSF1A and CyclinA2 may be involved in the occurrence and development of ICC. Inactivation of RASSF1A may contribute to the invasion and metastasis of ICC. CyclinA2 may play a significant role in the tumor inhibition mechanism mediated by RASSF1A.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: RASSF1A; CyclinA2; Intrahepatic cholangiocarcinoma; Immunohistochemistry

Wu JW, Li T, Li JJ, Meng YP, Chai XQ. Expression of RASSF1A and Cyclin A2 in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2038-2044 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2038.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2038>

摘要

目的: 探讨RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的表达情况、与临床生物学行为的关系及二者的相关性。

方法: 收集2010-01/2011-09华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科中心手术切除的30例ICC组织与18例癌旁组织, 利用免疫组织化学两步法, 检测RASSF1A与CyclinA2分别在上述组织中的表达, 并分析其表达的意义及相关性。

结果: RASSF1A在ICC组织中的表达明显低于癌旁组织中的表达, 其在ICC组织中阳性表达率为36.67%(11/30), 在癌旁组织中阳性表达率为83.33%(15/18)($P < 0.05$); CyclinA2在ICC组织中的表达明显高于癌旁组织中的表达, 其在

ICC组织中阳性表达率为73.33%(22/30), 在癌旁组织中阳性表达率为11.11%(2/18)($P<0.05$); RASSF1A失活与CyclinA2高表达在ICC的发生过程具有相关性($P<0.01$, $r=0.54$).

结论: RASSF1A基因与CyclinA2蛋白可能参与ICC的发生发展过程, RASSF1A基因失活可能参与ICC的浸润转移过程, 且二者的作用机制可能存在一定的相关性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: RASSF1A; 细胞周期蛋白A2; 肝内胆管细胞癌; 免疫组织化学

核心提示: 本研究表明RASSF1A的失活参与了肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的发生, 其作用机制可能与细胞周期蛋白A2(CyclinA2)有紧密的相关性, 而且发现RASSF1A失活的ICC患者更易发生淋巴结的转移, 临床分期也较晚, 可能预示着预后不良.

吴军卫, 李潼, 李锦锦, 孟元普, 柴新群. RASSF1A与CyclinA2在肝内胆管细胞癌中的表达与相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2038-2044 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2038.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2038>

0 引言

肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是指发生于二级胆管以上的末梢侧肝内小胆管的胆管细胞癌, 起源于肝内胆管上皮细胞, 约占胆管细胞癌的5%-20%^[1]. 与肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)相比, ICC更容易发生早期淋巴结转移与术后复发^[2]. 但是其与肝门胆管癌(hilar cholangiocarcinoma)相比也有不同^[3], 肝门胆管癌比ICC更容易侵犯周围神经及淋巴结^[1]. 近30年来, 在全世界范围内, 有数据表明: ICC的发病率和死亡率呈不断上升趋势^[4,5]. RASSF1A是一个新型的抑癌基因, 其失活可以导致多种恶性肿瘤的发生, 其失活方式以启动子甲基化最为常见. RASSF1A作为抑癌基因, 可通过多种不同的途径发挥作用, 包括促进细胞凋亡、调节染色体和微管的稳定性和调控细胞周期等. 本文主要探讨RASSF1A基因与细胞周期蛋白A2(CyclinA2)在ICC组织与癌旁组织中的表达与临床意义, 并分析RASSF1A发挥抑癌作用是否同CyclinA2具有相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集华中科技大学同济医学附属协和医院肝胆外科2010-01/2011-09手术切除的ICC标本30例及癌旁组织18例, 所有标本的患者术前均未经过化疗和其他抗肿瘤治疗. 其中男性15例, 女性15例; 有血管癌栓者5例, 无癌栓者25例; 高、中分化胆管细胞癌20例, 低分化胆管细胞癌10例; 有淋巴结转移者11例, 无淋巴结转移者19例; 周围脏器转移者6例, 无转移者24例; Nathan分期^[6] I期、II期17例, III期、IV期13例. 所有组织均经脱水、石蜡包埋、4 μm 连续切片后进行实验. RASSF1A兔抗人多克隆抗体、CyclinA2兔抗人多克隆抗体均购自北京博奥森生物公司, 即用型SV两步法试剂盒、DAB显色液均购自武汉博士德公司.

1.2 方法 采用SV(Super Vision)免疫组织化学两步法的方法分别检测ICC组织和癌旁组织中的RASSF1A和CyclinA2的表达, 具体步骤严格按照说明书上进行. 兔抗人RASSF1A一抗及CyclinA2一抗的工作浓度均为1:100, RASSF1A和CyclinA2均用已知的正常乳腺组织阳性切片作为阳性对照; 用0.01 mol/L PBS(pH7.4)代替RASSF1A和CyclinA2的一抗做阴性对照. 判断标准: RASSF1A染色阳性主要定位于细胞质, CyclinA2染色阳性主要定位于细胞核. 用Mattern积分法^[7]染色指数评定染色结果: 阳性细胞百分率: 每例标本中, 随机选择10个含有阳性细胞的高倍视野($\times 400$), 每个视野计数100个肿瘤细胞, 取染色阳性细胞数的平均值计算阳性细胞百分率. 无阳性细胞定为0; 阳性细胞 $\leq 25\%$ 定为1; 阳性细胞 $\leq 50\%$ 定为2; 阳性细胞 $> 50\%$ 定为3. 染色强度: 阴性定为0; 浅黄色定为1; 深黄色定为2; 棕黄色定为3. 以染色强度和阳性细胞百分率之和为染色指数, 0为最小值, 6为最大值. 染色阳性定为阳性表达指数 > 3 , 染色阴性定为阳性表达指数 ≤ 3 .

统计学处理 所有数据采用SPSS15.0进行统计学分析, 两组组间率的比较用 χ^2 检验, 相关性比较用配对 χ^2 检验, 看其是否具有统一性, 按 $\alpha=0.05$ 检验标准, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 RASSF1A在ICC组织和癌旁组织中的表达 RASSF1A蛋白定位处染色呈棕黄或棕褐色, 主要表达于细胞质中, 细胞核中也有少量表达(图1A, B). 在18例癌旁组织中, RASSF1A阳性表达

■ 研发前沿

在ICC发生发展过程中, 有许多分子机制参与其中, 但分子生物学研究并未能完全解释其发生发展浸润转移的过程, 故立足于每种细胞因子的体内或体外的研究, 仍有助于去揭示这些细胞因子在ICC发生发展中的作用, 并为今后临床上基因治疗提供新的思路.

■相关报道

国内外对RASS-F1A作用研究多集中在肺癌与泌尿系统的肿瘤,对肝内胆管细胞癌也有报道,但对其在肝内胆管细胞癌的表达及作用机制则少见报道。

表 1 RASSF1A在肝内胆管细胞癌组织和癌旁组织中的表达

组织类型	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
肝内胆管癌	30	11	19	36.67		
癌旁组织	18	15	3	83.33	9.869	0.002

表 2 RASSF1A的表达与肝内胆管细胞癌组织的临床病理特征的关系

病理资料	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)					0.287	>0.05
<60	20	8	12	40.00		
≥60	10	3	7	30.00		
性别					1.292	>0.05
男	15	7	8	46.67		
女	15	4	11	26.67		
CA199(U/mL)					0.578	>0.05
<100	19	6	13	31.58		
≥100	11	5	6	45.45		
周围脏器转移					4.342	<0.05
有	6	0	6	0.00		
无	24	11	13	45.83		
胆管癌分化程度					4.593	<0.05
高中分化	20	10	10	50.00		
低分化	10	1	9	10.00		
有无淋巴结					5.687	<0.05
有	11	1	10	9.09		
无	19	10	9	52.63		
有无血管癌栓					0.781	>0.05
有	5	1	4	20.00		
无	25	10	15	40.00		
Nathan分期					4.474	<0.05
I-II期	17	9	8	52.94		
III-IV期	13	2	11	15.38		

率为83.33%(15/18);在30例ICC组织中,其阳性表达率为36.67%(11/30),二者结果比较差异具有统计学意义($P<0.05$,表1)。

2.2 RASSF1A在ICC组织中的表达与其临床生物学行为的关系 在30例ICC患者中,RASSF1A的表达与年龄、性别、CA199水平、有无血管癌栓等无相关性($P>0.05$)。而与有无周围脏器转移、胆管癌分化程度、有无淋巴结转移、Nathan分期有关($P<0.05$,表2)。

2.3 CyclinA2在ICC中的表达 CyclinA2蛋白定位处染色呈棕黄或棕褐色,主要表达于细胞核中,细胞质也有少量分布(图1C)。在30例ICC组织中,CyclinA2阳性表达率为73.33%(22/30);在18例癌旁组织中,其阳性率为11.11%(2/18),二者结果比

较差异具有统计学意义($P<0.01$)(表3)。

2.4 RASSF1A与CyclinA2在ICC中表达的相关性 在30例ICC组织中,RASSF1A失活与CyclinA2高表达的有18例,RASSF1A表达阳性与CyclinA2表达阴性有7例(表4)。经配对 χ^2 检验,两者比较 $\chi^2 = 12.139$, $P<0.01$ (表4),表明RASSF1A失活和CyclinA2高表达在ICC中表达情况一致,其相关性有统计学意义。且 $r = 0.54$,其值 >0.5 ,表明RASSF1A发挥抑癌作用的过程可能同紧密CyclinA2相关。

3 讨论

2000年,Dammann等^[8]利用酵母双杂交筛选方法,在染色体3p21.3区域克隆出一种新型的Ras因子-RASSF1A。他属于RASSF1家族(Ras asso-

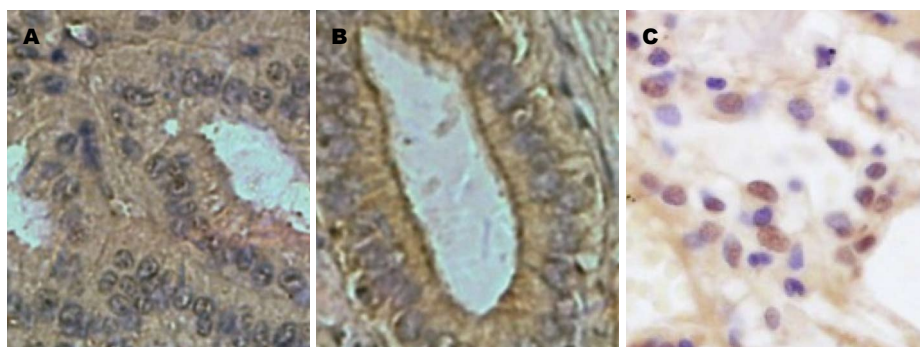


图 1 RASSF1A和CyclinA2的表达($\times 400$). A: RASSF1A在ICC组织中的阳性表达; B: RASSF1A在癌旁组织中的阳性表达; C: CyclinA2在ICC组织中的阳性表达. ICC: 肝内胆管细胞癌.

应用要点

本研究表明ICC患者RASSF1A存在较高的失活率, RASSF1A失活或低表达的ICC组织多伴有CyclinA2的高表达, 二者表达可能存在负相关, 表明二者存在某种调节机制, 这给以后ICC的基因治疗提供了一个新的靶点.

表 3 CyclinA2在肝内胆管细胞癌组织和癌旁组织中的表达

组织类型	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
肝内胆管癌	30	22	8	73.33		
癌旁组织	18	2	16	11.11	17.422	0.000

表 4 RASSF1A和CyclinA2在肝内胆管细胞癌中表达比较(*n*)

RASSF1A失活	CyclinA2高表达		合计(<i>n</i>)	χ^2 值	<i>P</i> 值
	是(<i>n</i>)	否(<i>n</i>)			
是(<i>n</i>)	18	1	19		
否(<i>n</i>)	4	7	11		
合计(<i>n</i>)	22	8	30	12.139	0.000

ciation domain family 1)(RASSF1A-RASSF1H)的一个亚型, 其cDNA全长1873 bp, 编码由340个氨基酸组成的蛋白质, 其表达蛋白的N'末端与一个富含半胱氨酸的甘油二酯/佛波酯(DAG)结合区高度同源, 即蛋白激酶C的保守域1, RASSF1A表达多肽链的氨基酸的第125到138位可能是ATM的磷酸化位点. 很多实验都表明RASSF1A的过量表达可以促进细胞凋亡、细胞周期停滞和减少癌细胞的发生. RASSF1A的减少会导致细胞周期失去控制, 增强基因的不稳定性, 增强细胞的移动性, 抵抗K-ras和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导的细胞凋亡^[9-14]. 目前已有研究者证实RASSF1A失活参与了多种人类肿瘤如肺癌^[15,16]、胃癌^[17]、贲门癌与食管癌^[18]、膀胱癌^[19]、肾癌^[20]、肝细胞癌^[21]、宫颈癌与子宫内膜癌^[22]等的发生, 但是目前国内外对RASSF1A与肝内胆管细胞癌关系的研究较少.

在人体内CyclinA2主要表达于人体的胚胎细胞和性腺生殖细胞(如精原细胞、精母细胞等)^[23], 也常见于人类肿瘤^[24,25], 在DNA合成以及

细胞周期G₁-S期与G₂-M期的转换过程中起重要作用^[11]. RASSF1A是否通过CyclinA2发挥抑癌作用一直是研究的热点, 但是其机制也存在诸多争议. Fenton等^[26]研究表明RASSF1A可以通过与转录因子p120E4F相互作用而影响G₁期的过渡. p120E4F可以通过下调CyclinA2的转录, 导致细胞周期停滞在G₁期^[27]. RASSF1A可以加强p120E4F抑制CyclinA2的能力并与p120E4F协同诱导细胞周期的停滞^[12]. 所以若RASSF1A失活其抑制CyclinA2的能力减弱, 则CyclinA2会显著增多, 进而促进DNA的合成以及加速细胞有丝分裂的进程. 但是有研究表明RASSF1A也可以控制细胞分裂停滞在G₂-M期. 2004年Song等^[28]报道了RASSF1A通过细胞周期相关蛋白Cdc20抑制后期促进复合物(anaphase-promoting complex, APC), 诱导细胞停滞在G₂向M期过渡的前中期. Cdc20可以绑定和激活大分子APC的泛素连接酶, 继而促进细胞周期蛋白CyclinA2和B的泛素化和降解. 与RASSF1A作用后, Cdc20激活APC泛素连接酶的作用被抑制, 因此APC不能降解CyclinA2和B, 稳定的CyclinA2和B会阻止细胞分裂的进行. 失活的RASSF1A导致细胞分裂的加速. 由此可以看出RASSF1A在CyclinA2的调节中的角色是极其复杂的, Fenton等^[26]的实验发现RASSF1A的作用是减少CyclinA2蛋白的水平, 但是Song等^[28]的实验却表明他可以稳定乃至增加CyclinA2蛋白的水平. 这种矛盾的现象有待于我们进一步研究去证实其发挥作用的真

■同行评价

本文研究对象为30例肝内胆管细胞癌和18例癌旁组织,用免疫组织化学检测方法发现,RASSF1A在肝内胆管癌的表达降低,CyclinA2的表达升高,并发现两者的表达相关,具有一定指导意义。

正机制,本实验的目的之一就是探求RASSF1A同CyclinA2是否存在关联,亦或是二者是相互独立的因素。

RASSF1A蛋白还是一种微管结合蛋白,可以通过微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)与微管相互作用。有研究表明RASSF1A可以通过调控微管蛋白的动力使其可以控制细胞的运动性和侵袭性。Dalloi等^[29]通过研究非小细胞肺癌发现过量表达RASSF1A可以抑制癌细胞的迁移,改变癌细胞的形态。通过研究敲除RASSF1A基因的鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)及HeLa细胞的特性,发现上述类型细胞与细胞之间的粘附力被弱化,且细胞的变形能力增强,这与微管分枝扩展增多和张力纤维肌动蛋白的形成有关。因此,上述实验表明RASSF1A功能的缺失可能在肿瘤的发生、发展阶段都起作用。

2002年Wong等^[30]第一次发现13例肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC)中RASSF1A失活的概率为69%,而且发现RASSF1A失活与ECC的发生、发展存在很大的相关性。Kim等^[31]发现RASSF1A启动子甲基化的概率在ECC中高于其癌前病变胆管上皮内瘤变($P<0.05$),在正常胆管上皮、胆管上皮内瘤变、ECC中,其甲基化的概率是逐渐增加的。

国内Chen等^[32]采用RT-PCR方法发现RASSF1A基因与ECC的淋巴结转移、TNM分期相关,也与其分化程度存在相关性。他们用DNA甲基转移酶抑制剂5-氮-2-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对人胆管癌细胞株QBC-939进行干预后,发现5-Aza-CdR能够诱导已经甲基化的RASSF1A基因启动子区域去甲基化,并通过该机制诱导RASSF1A基因在人胆管癌细胞系QBC-939中重新表达,这也充分说明了RASSF1A基因与ECC的发生存在很大相关性。这也为胆管癌的基因治疗开辟一个新的方向,因为在胆管癌中,RASSF1A基因是完整的,因为甲基化而休眠,如果通过对其启动子进行脱甲基化使其重新表达,这将是一个新的肿瘤治疗方法。

以上研究结果表明,RASSF1A作为一种新型抑癌基因,其失活与癌症的发生、发展有着必然联系,与ECC的发生、发展、治疗、预后也息息相关。但是RASSF1A怎样通过相关机制调控CyclinA2的表达来调节细胞周期的进程还存在争议;RASSF1A失活与人非小细胞肺癌侵

袭性增强有关,但是其与ICC的侵袭力是否相关尚未见报道;RASSF1A失活与ECC的发生、发展、预后相关已被国内外许多研究证实,但是其与ICC的关系却罕见报道。本实验旨在通过研究RASSF1A的失活是否与ICC的发生相关,若存在相关性其表达与CyclinA2的表达在ICC中是否有关联,且其失活是否也与ICC侵袭力增强、分期较晚、预后较差相关。

本实验的研究结果表明RASSF1A在ICC和癌旁组织中的阳性表达率分别为36.67%、83.33%,在癌旁组织中的表达率明显高于癌组织,其差异具有显著性意义($P<0.05$);CyclinA2在ICC和癌旁组织的阳性表达率分别为73.33%、11.11%,在ICC组织中的表达强于癌旁组织,其差异同样具有显著性($P<0.05$);而且二者在ICC的表达紧密相关($P<0.01$, $r = 0.54$)。由此可以得出RASSF1A在ICC中的失活率为63.33%,其在ICC中的表达减弱或消失,而且发现RASSF1A失活或低表达的ICC组织中常伴有CyclinA2的高表达,可以推测,二者之间可能存在抑制表达的机制,RASSF1A发挥抑癌作用的机制可能与CyclinA2增多有关,这与Fenton等^[26]的研究结果相一致。

我们还发现RASSF1A蛋白的表达水平与年龄、性别、CA199水平及有无血管浸润无关,与肿瘤分化程度、有无周围脏器转移、有无淋巴结转移、Nathan分期有关。低分化、有淋巴结转移、有周围脏器转移、Nathan分期晚的ICC患者,其RASSF1A的失活率较高,提示RASSF1A的表达失活可能与ICC的分化低、侵袭力强及预后较差相关,这与相关文献报道的结果相一致,这在以后可能会作为判断胆管癌预后的一个指标。

总之,在ICC患者中RASSF1A低表达与CyclinA2的高表达同ICC的发生发展相关;RASSF1A的失活可能参与了ICC的浸润转移过程。进一步的研究需要证实RASSF1A与CyclinA2的作用机制,如何利用RASSF1A启动子去甲基化的方法使RASSF1A在人体内重新表达,从而发挥其抑癌作用,抑制肿瘤的转移和复发,并有望为ICC的基因治疗提供一个新的研究方向或靶点。

4 参考文献

- 1 Sirica AE. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy. *Hepatology* 2005; 41: 5-15 [PMID: 15690474 DOI: 10.1002/hep.20537]

- 2 Yang J, Yan LN. Current status of intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6289-6297 [PMID: 19009641 DOI: 10.3748/wjg.14.6289]
- 3 Berthiaume EP, Wands J. The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 127-137 [PMID: 15192786 DOI: 10.1055/s-2004-828890]
- 4 Patel T. Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies. *BMC Cancer* 2002; 2: 10 [PMID: 11991810 DOI: 10.1186/1471-2407-2-10]
- 5 Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7]
- 6 Nathan H, Aloia TA, Vauthey JN, Abdalla EK, Zhu AX, Schulick RD, Choti MA, Pawlik TM. A proposed staging system for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 14-22 [PMID: 18987916 DOI: 10.1245/s10434-008-0180-z]
- 7 Bittner M, Meltzer P, Chen Y, Jiang Y, Seftor E, Hendrix M, Radmacher M, Simon R, Yakhini Z, Bendor A, Sampas N, Dougherty E, Wang E, Marincola F, Gooden C, Lueders J, Glatfelter A, Pollock P, Carpten J, Gillanders E, Leja D, Dietrich K, Beaudry C, Berens M, Alberts D, Sondak V. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 2000; 406: 536-540 [PMID: 10952317 DOI: 10.1038/35020115]
- 8 Dammann R, Li C, Yoon JH, Chin PL, Bates S, Pfeifer GP. Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3. *Nat Genet* 2000; 25: 315-319 [PMID: 10888881 DOI: 10.1038/77083]
- 9 Vos MD, Martinez A, Elam C, Dallol A, Taylor BJ, Latif F, Clark GJ. A role for the RASSF1A tumor suppressor in the regulation of tubulin polymerization and genomic stability. *Cancer Res* 2004; 64: 4244-4250 [PMID: 15205337 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0339]
- 10 Ortiz-Vega S, Khokhlatchev A, Nedwidek M, Zhang XF, Dammann R, Pfeifer GP, Avruch J. The putative tumor suppressor RASSF1A homodimerizes and heterodimerizes with the Ras-GTP binding protein Nore1. *Oncogene* 2002; 21: 1381-1390 [PMID: 11857081 DOI: 10.1038/sj.onc.1205192]
- 11 Rabizadeh S, Xavier RJ, Ishiguro K, Bernabeortiz J, Lopez-Illasaca M, Khokhlatchev A, Mollahan P, Pfeifer GP, Avruch J, Seed B. The scaffold protein CNK1 interacts with the tumor suppressor RASSF1A and augments RASSF1A-induced cell death. *J Biol Chem* 2004; 279: 29247-29254 [PMID: 15075335 DOI: 10.1074/jbc.M401699200]
- 12 Dallol A, Cooper WN, Al-Mulla F, Agathangelou A, Maher ER, Latif F. Depletion of the Ras association domain family 1, isoform A-associated novel microtubule-associated protein, C19ORF5/MAP1S, causes mitotic abnormalities. *Cancer Res* 2007; 67: 492-500 [PMID: 17234756 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3604]
- 13 Song MS, Chang JS, Song SJ, Yang TH, Lee H, Lim DS. The centrosomal protein RAS association domain family protein 1A (RASSF1A)-binding protein 1 regulates mitotic progression by recruiting RASSF1A to spindle poles. *J Biol Chem* 2005; 280: 3920-3927 [PMID: 15546880 DOI: 10.1074/jbc.M409115200]
- 14 Vos MD, Dallol A, Eckfeld K, Allen NP, Doninger H, Hesson LB, Calvisi D, Latif F, Clark GJ. The RASSF1A tumor suppressor activates Bax via MOAP-1. *J Biol Chem* 2006; 281: 4557-4563 [PMID: 16344548 DOI: 10.1074/jbc.M512128200]
- 15 Tan S, Sun C, Wei X, Li Y, Wu Y, Yan Z, Feng F, Wang J, Wu Y. Quantitative assessment of lung cancer associated with genes methylation in the peripheral blood. *Exp Lung Res* 2013; 39: 182-190 [PMID: 23614702 DOI: 10.3109/01902148.2013.790096]
- 16 Ko E, Lee BB, Kim Y, Lee EJ, Cho EY, Han J, Shim YM, Park J, Kim DH. Association of RASSF1A and p63 with poor recurrence-free survival in node-negative stage I-II non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1204-1212 [PMID: 23319821 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2848]
- 17 Zheng-Hao D, Ji-Fang W, De-Sheng X, Jian-Hua Z. Galectin-1 is up-regulated by RASSF1A gene in human gastric carcinoma cell line SGC7901. *APMIS* 2012; 120: 582-590 [PMID: 22716213 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2012.02874.x]
- 18 Zhou SL, Cui J, Fan ZM, Li XM, Li JL, Liu BC, Zhang DY, Liu HY, Zhao XK, Song X, Wang R, Yan ZC, Yi HX, Wang LD. Polymorphism of A133S and promoter hypermethylation in Ras association domain family 1A gene (RASSF1A) is associated with risk of esophageal and gastric cardia cancers in Chinese population from high incidence area in northern China. *BMC Cancer* 2013; 13: 259 [PMID: 23705663 DOI: 10.1186/1471-2407-13-259]
- 19 Zhong X, Isharwal S, Naples JM, Shiff C, Veltri RW, Shao C, Bosompem KM, Sidransky D, Hoque MO. Hypermethylation of genes detected in urine from Ghanaian adults with bladder pathology associated with Schistosoma haematobium infection. *PLoS One* 2013; 8: e59089 [PMID: 23527093 DOI: 10.1371/journal.pone.0059089]
- 20 Kawai Y, Sakano S, Suehiro Y, Okada T, Korenaga Y, Hara T, Naito K, Matsuyama H, Hinoda Y. Methylation level of the RASSF1A promoter is an independent prognostic factor for clear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 2010; 21: 1612-1617 [PMID: 20038516 DOI: 10.1093/annonc/mdp577]
- 21 Mohamed NA, Swify EM, Amin NF, Soliman MM, Tag-Eldin LM, Elsherbiny NM. Is serum level of methylated RASSF1A valuable in diagnosing hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis C? *Arab J Gastroenterol* 2012; 13: 111-115 [PMID: 23122451 DOI: 10.1016/j.ajg.2012.06.009]
- 22 Kim GE, Kweon SS, Lee JS, Lee JH, Nam JH, Choi C. Quantitative assessment of DNA methylation for the detection of cervical and endometrial adenocarcinomas in liquid-based cytology specimens. *Anal Quant Cytol Histol* 2012; 34: 195-203 [PMID: 23016466]
- 23 Ravnik SE, Wolgemuth DJ. The developmentally restricted pattern of expression in the male germ line of a murine cyclin A, cyclin A2, suggests roles in both mitotic and meiotic cell cycles. *Dev Biol* 1996; 173: 69-78 [PMID: 8575639 DOI: 10.1006/dbio.1996.0007]
- 24 Haeflrich T, Bacher U, Haeflrich C, Kern W, Schnittger S. Insight into the molecular pathogenesis of myeloid malignancies. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 90-97 [PMID: 17255785 DOI: 10.1097/MOH.0b013e3280168490]
- 25 Schick V, Majores M, Fassunke J, Engels G, Simon M, Elger CE, Becker AJ. Mutational and expression

- analysis of CDK1, cyclinA2 and cyclinB1 in epilepsy-associated glioneuronal lesions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007; 33: 152-162 [PMID: 17359356 DOI: 10.1111/j.1365-2990.2006.00788.x]
- 26 Fenton SL, Dallol A, Agathangelou A, Hesson L, Ahmed-Choudhury J, Baksh S, Sardet C, Dammann R, Minna JD, Downward J, Maher ER, Latif F. Identification of the E1A-regulated transcription factor p120 E4F as an interacting partner of the RASSF1A candidate tumor suppressor gene. *Cancer Res* 2004; 64: 102-107 [PMID: 14729613 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2622]
- 27 Fajas L, Paul C, Vié A, Estrach S, Medema R, Blanchard JM, Sardet C, Vignais ML. Cyclin A is a mediator of p120E4F-dependent cell cycle arrest in G1. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2956-2966 [PMID: 11283272 DOI: 10.1128/MCB.21.8.2956-2966.2001]
- 28 Song MS, Song SJ, Ayad NG, Chang JS, Lee JH, Hong HK, Lee H, Choi N, Kim J, Kim H, Kim JW, Choi EJ, Kirschner MW, Lim DS. The tumour suppressor RASSF1A regulates mitosis by inhibiting the APC-Cdc20 complex. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 129-137 [PMID: 14743218 DOI: 10.1038/ncb1091]
- 29 Dallol A, Agathangelou A, Tommasi S, Pfeifer GP, Maher ER, Latif F. Involvement of the RASSF1A tumor suppressor gene in controlling cell migration. *Cancer Res* 2005; 65: 7653-7659 [PMID: 16140931]
- 30 Wong N, Li L, Tsang K, Lai PB, To KF, Johnson PJ. Frequent loss of chromosome 3p and hypermethylation of RASSF1A in cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2002; 37: 633-639 [PMID: 12399230 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00269-6]
- 31 Kim BH, Cho NY, Shin SH, Kwon HJ, Jang JJ, Kang GH. CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant lesion of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* 2009; 455: 343-351 [PMID: 19763613 DOI: 10.1007/s00428-009-0829-4]
- 32 Chen YJ, Tang QB, Zou SQ. Inactivation of RASSF1A, the tumor suppressor gene at 3p21.3 in extrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1333-1338 [PMID: 15761971]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利, 郑州大学基础医学院基础肿瘤学教研室 河南省郑州市 450001

莫赛军, 讲师, 主要从事肿瘤病因及治疗机制的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81101686

河南省教育厅科学技术研究重点基金资助项目, No. 12A310008

作者贡献分布: 本文综述由莫赛军、柯少瑞及张佳彤完成; 杨胜利负责审核.

通讯作者: 杨胜利, 教授, 450001, 河南省郑州市科学大道100号, 郑州大学基础医学院基础肿瘤学教研室.

shlyang@zzu.edu.cn

电话: 0371-66658189

收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-05-30

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population

Sai-Jun Mo, Shao-Rui Ke, Jia-Tong Zhang, Sheng-Li Yang

Sai-Jun Mo, Shao-Rui Ke, Jia-Tong Zhang, Sheng-Li Yang, Department of Basic Oncology, Basic Medical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of China, No. 81101686; the Foundation of Henan Educational Committee, No. 12A310008

Correspondence to: Sheng-Li Yang, Professor, Department of Basic Oncology, Basic Medical College of Zhengzhou University, 100 of Science Road, Zhengzhou 450001, Henan Province, China. shlyang@zzu.edu.cn

Received: 2013-05-08 Revised: 2013-05-30

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of most common malignant tumors in China, and the polymorphisms of genes associated with susceptibility to ESCC are important factors affecting individual tumor susceptibility. Genes associated with susceptibility to ESCC in Chinese Han population mainly contain metabolizing enzyme-associated genes, nucleotide excision repair genes, methylenetetrahydrofolate reductase gene, tumor suppressor genes, oncogenes, and cytokines. The genotypes of genes associated with susceptibility to ESCC have obvious regional distribution in Chinese

Han population. This review aims to summarize and analyze the polymorphisms of genes associated with susceptibility to ESCC, including tumor suppressor genes and genes encoding oncogenes and cytokines, in Chinese Han population.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Inherited susceptible gene; Polymorphism; Regional distribution; Chinese Han population

Mo SJ, Ke SR, Zhang JT, Yang SL. Progress in research of polymorphisms of genes associated with susceptibility to esophageal cancer in Chinese Han population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2045-2050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2045.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2045>

摘要

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见的恶性肿瘤之一, 其易感基因的遗传多态性是影响个体食管癌易感性的重要因素. 中国汉族人群食管癌遗传易感基因主要包括代谢酶相关基因、DNA切除修复相关基因、相关的抑癌基因、癌基因和细胞因子基因等. 本文主要对近年研究的中国汉族人群食管癌易感相关的抑癌基因、癌基因及细胞因子等进行总结和分析. 结果表明上述ESCC遗传易感基因的多态基因型在中国汉族人群中具有明显的地域分布, 这为食管癌的区域诊断、监测及早期筛查提供了重要的理论基础.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管鳞癌; 遗传易感基因; 多态性; 地域分布; 中国汉族人群

核心提示: 基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险. 我国食管癌及其易感基因多态基因型的分布具有显著的地域性, 这对于食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断有着非常重要的指导意义.

■背景资料

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国高发恶性肿瘤. 遗传易感基因多态性在ESCC发生过程中起着非常重要的作用. 深入研究这些基因的突变表型与ESCC发生之间的关系, 可为预防、监测、早期筛查乃至预后判断提供更为合理的科学依据.

■同行评议者

张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

■ 研发前沿

食管癌易感基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险。但由于各地科学研究水平的差异,所研究的我国ESCC易感基因实验数据并不完整。因此,非常有必要加强我国各食管癌高发区食管癌易感基因的研究。

莫赛军, 柯少瑞, 张佳彤, 杨胜利. 中国汉族人群食管癌遗传易感基因多态性的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2045-2050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2045.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2045>

0 引言

近年的分子生物学研究表明,遗传基因的多态性可导致某些人群在同样环境条件下,更容易发生某一类疾病。通过对基因多态性与疾病易感性的联系研究,可阐明人体对疾病、毒物和应激的易感性。食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见恶性肿瘤之一,严重危害民众的身心健康。越来越多的证据表明,与ESCC发生相关的遗传易感基因除了与外源化合物的活化和解毒有关的代谢酶和DNA损伤修复基因外,还包括癌基因、抑癌基因及细胞因子等。目前对代谢酶和DNA修复相关的食管癌遗传易感基因的研究和综述很多,在此不一一赘述。本文主要对近年研究较多的与我国汉族人群ESCC易感相关的癌基因和抑癌基因、细胞因子等基因多态性进行总结和分析,以期对ESCC预防和治疗提供新的研究领域。

1 相关抑癌基因和癌基因

食管癌的发生发展涉及到许多癌基因和抑癌基因的改变。已知与我国ESCC相关的具有多态性的抑癌基因和癌基因包括*p53*、*p16*、*p21*、*Rb*、第10染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, *PTEN*)、*cyclinD1*、小鼠双微体基因(murine double minute 2, *MDM2*)等。

*p53*基因是与肿瘤关系最密切的抑癌基因,其72位密码子Arg/Pro突变在包括食管癌在内的所有肿瘤中最为常见。该密码子纯合突变Pro/Pro为河南林州、四川盐亭及广东潮汕等地人群ESCC易感因素^[1-3],但亦有研究表明该多态位点并不影响江苏淮安及河北磁县、涉县等地人群ESCC患病率^[4,5]。除72 Arg/Pro突变外,河南林州食管癌高发区人群*p53*基因1、2、4、5、6、7、8外显子均存在突变^[1],且第5外显子突变频率与饮食密切相关^[6]。研究发现河南林州人群患ESCC的风险还与抑癌基因*PTEN* rs2735343 C/G多态相关,且该位点可与P53 72Arg/Pro相互作用,共同影响该人群患ESCC风险^[7]。*Rb*基因是一个研究较早的显性抑癌基因,其突变与食管癌发生密切相关。如陕西人群*Rb*基因第17内含

子存在2个等位基因片段即945、630加315 bp,二者在食管正常和癌组织中的基因型频率分布具有显著差异^[8]。此外,细胞周期抑制因子P21 3'UTR 20位核苷酸在北方人群中存在突变,且携带T/T基因型的吸烟个体对ESCC更为易感^[9];另外其密码子31 Ser/Arg突变位点中, Ser/Ser纯合基因型可以显著增加宁夏汉族患ESCC风险^[10]。但亦有研究表明, P21 31Ser/Arg突变并不影响江苏淮安等地人群的ESCC易感性^[11]。食管癌相关基因1和2(esophageal cancer related gene 1 and 2, *ECRG1*和*ECRG2*)在体内外均可以抑制肿瘤细胞的生长。Li等^[12]对北京及周边人群的研究发现,携带*ECRG1* 290 Gln/Gln及290 Arg/Gln基因型位点的个体ESCC发生风险显著高于携带290 Arg/Arg基因型的个体。*ECRG2*外显子4存在短串联重复序列多态性,研究发现新疆汉族和河南林州等地人群中携带TCA3/TCA3基因型个体食管癌发生和转移的风险增加^[13]。

除上述抑癌基因外,癌基因突变在很大程度上亦影响我国汉族人群ESCC易感性,如*cyclinD1*和*MDM2*等。*cyclinD1*是与细胞周期相关的癌基因之一,对该基因870G/A多态性与食管癌的关系报道不一。Zhang等^[14]对我国北方人群的研究结果显示GG基因型ESCC患病风险显著降低,但Yu等^[15]认为870G/A与ESCC患病风险无关。此外,*MDM2* 309T/G多态性亦可能是食管癌重要的遗传易感因素,其309GG基因型可增加鲁西南汉族人群ESCC发病风险^[16]。

2 相关细胞因子及其受体

细胞因子(cytokine, CK)是一类能在细胞间传递信息、具有免疫调节和效应功能的蛋白质或小分子多肽,包括白介素(interleukin, IL)、干扰素(interferon, IFN)、肿瘤坏死因子超家族(tumor necrosis factor, TNF)、生长因子等。

微环境中免疫相关基因水平的变化与食管癌的发生发展密切相关。研究发现*IL-6*、*IL-18*、*IL-12*及*IL-23R*(receptor)等基因的多态性与我国人群食管癌易感性相关。如广西右江人群存在*IL-6*基因-634C/G位点多态,且携带G等位基因的个体食管癌的发病风险升高^[17]。河南人群存在*IL-18*启动子多态性和*IL-12*基因SNP位点:*IL-18*启动子-137 GC和CC基因型比GG基因型个体易患食管癌^[18];*IL-12A* rs568408 G/A、*IL-12B* rs3212227 A/C以及*IL-12Rβ1* 378 C/G多态位点均与该地区人群ESCC相关^[19]。此外,*IL-*

23R rs6682925 TC/CC和rs1884444 TG/GG多态基因型与江苏淮安人群食管癌的高发有关^[20].

IFN具有抗肿瘤效应. 研究发现IFN- γ 874 AT基因型可增加大汶河流域人群食管癌易感性, 且T等位基因与饮酒指数、霉变食品摄入和三餐时间不规律存在交互作用^[21]; 另外, 其调节因子3(interferon regulatory factor 3, *IRF-3*)基因427位密码子多态可增加河南安阳人群食管癌发病风险^[22]. 其他具有抗肿瘤效应的细胞因子如人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene, CTLA4)多态性亦发现与ESCC发生有关. 如HLA-A和HLA-B、CTLA4+49A/G和-1661A/G位点多态性分别与广东潮汕人群、河南安阳人群ESCC易感相关^[23,24].

生长因子突变往往导致肿瘤易感性的产生. 如转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1), 该基因915G/C和启动子-509C/T多态性均与我国北方人群ESCC发病相关. TGF- β 1 915C和-509T等位基因可能是食管癌发病的遗传易感基因^[25,26]. 但对河南、江苏淮安等地人群研究发现, 携带突变基因型-509CT/TT的个体患食管癌风险显著降低^[27]. 此外, *TGF- β 1*基因869T/C多态性在广西食管癌组和正常人群中的分布差异无统计学意义; 但在河南人群中, 携带TC和CC基因型的个体患食管癌的风险明显增加^[28]. 同样, TGF- β 受体多态性也与食管癌发生相关. 如转化生长因子 β I型受体(transforming growth factor-beta receptor type 1 gene, TGF β R1)内含子7存在24G/A位点突变, 北方汉族人群中携带A等位基因的个体食管鳞癌的发病风险升高^[29]. 江苏淮安人群中, TGF- β R2 -875G/A突变位点可显著降低该人群ESCC发病率^[27]. 此外有研究表明, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和胰岛素样生长因子1基因(insulin-like growth factor- I, *IGF- I*)多态性也与ESCC发生相关. 如EGF 61G/A和IGF rs7965399 T/C位点突变分别与四川人群和江苏镇江等地人群ESCC易感相关^[30,31].

TNF亦是与ESCC易感相关的重要因子, 研究发现其家族成员Fas和Fas配体(Fas ligand, FasL)基因多态性影响ESCC发生. 如Fas -1377G/A、Fas -670A/G和FasL -844T/C多态位点与北京及其附近人群食管癌易感相关, 该人群中携带Fas -1377AA、Fas -670GG和FasL -844的个体ESCC发生危险增加^[32]. 新近发现的TNF超家族

成员, 即诱骗受体3(decoy receptor 3, DcR3, 又称肿瘤坏死因子受体6B), 其147C/T突变与重庆及周边的人群易感相关, 携带CC基因型的个体患ESCC的危险明显升高^[33].

3 新近发现的食管癌易感相关基因

全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)是目前搜寻复杂疾病易感基因的最新技术, 目前利用该技术已发现不少与我国汉族人群相关的食管癌易感基因, 如磷脂酶基因(phospholipase C epsilon 1, *PLCE1*)和核黄素转运基因C20orf54(chromosome 20 open reading frame 54, 又称*RFT2*, human riboflavin transporter 2)等^[34]. 进一步的研究发现*PLCE1*和*C20orf54*基因突变与ESCC发生危险密切相关. 不少研究表明, *PLCE1* SNP rs2274223 A/G突变与我国ESCC发生相关^[35-37], 如Zhou等^[36]发现河北磁县等地*PLCE1* rs2274223 G突变型可导致ESCC危险率升高. *C20orf54*基因有3个SNP位点与ESCC发生相关, 即1172C/A(rs3746803)、1246A/G(rs3746802)和rs3746804 1139C/T位点, 其中rs3746803和rs3746802不同基因型虽然在山西长治地区ESCC患者和健康人群中的分布具有显著差异, 但rs3746803突变基因型并没有表现出与ESCC发病危险率的相关性, 而rs3746802和rs3746804位点, 其携带突变基因型的个体其ESCC发病危险显著降低^[38,39]. 此外, 利用GWAS技术, 还先后在染色体4q23、16q12.1、17q21、22q12、3q27、17p13、18p11、5q11、6p21、10q23、12q24和21q22上鉴定了多个中国汉族食管癌易感位点^[40-43].

值得注意的是, 新近发现微小RNA(microRNA, miRNA)多态性也可影响我国汉族人群食管癌易感性. 对重庆及周边地区人群进行ESCC易感相关研究, 结果显示miR-146a前体G/C(rs2910164)多态性与食管癌易感有关, 与突变基因型CC相比, 携带基因型GG的个体患食管癌的危险升高(OR = 2.39), 而且在吸烟人群中, 该基因型的作用更为显著(OR = 3.17)^[44]. 这一研究结果表明miRNA在食管癌发生发展中起着非常重要作用.

4 结论

研究表明暴露于相同环境因素的人群却只有少数人发生食管癌, 提示个体的基因易感性因素在食管癌的发生或发展中起着非常重要的作用. 通过对我国汉族人群食管癌遗传易感基因

■ 相关报道

最近通过全基因组关联研究(genome-wide association studies)鉴别了多个全新的中国人群ESCC易感位点, 进一步表明ESCC的发生是环境和遗传因素共同作用的结果. 因此通过研究食管癌遗传易感基因多态性及其地域分布来揭示导致食管癌发生的个人遗传因素具有重要的意义.

■创新盘点

目前对代谢酶和DNA修复相关的食管癌遗传易感基因的研究和综述很多。本文主要对近年研究的与我国汉族人群ESCC易感相关的癌基因和抑癌基因、细胞因子等基因多态性进行总结和分析,以期为ESCC预防和治疗提供新的研究领域。

的分析发现,基因的遗传多态性很大程度上影响我国汉族人群食管癌的发病危险。已知我国食管癌具有明显的地域分布^[45],本文的分析结果显示不少ESCC易感基因多态基因型的分布也具有显著的地域性。如p53基因72位密码子纯合突变Pro/Pro为河南林州、四川盐亭及广东潮汕等地人群ESCC易感基因型,但并不影响江苏淮安及河北磁县、涉县等地人群ESCC患病率^[1-5]; *TGF-β1*启动子-509C/T位点,其-509T等位基因是我国北方人群ESCC发病危险因素,但却可降低河南、江苏淮安等地人群ESCC患病风险^[25-27]。此外,河南太行山和广东潮汕地区人群具有非常相似的ESCC易感基因多态位点,如CYP1A1 Ile462Val、CYP2E1 Dra I、MGMT Leu84Phe、P53 Arg72pro、6个Y染色体段串联重复序列和线粒体单倍群D5等^[2,46-49]。这一结果进一步证实了河南太行山人群与潮汕地区人群具有共同的遗传背景,这亦可能是潮汕人群为食管癌高危人群的原因之一^[50,51]。

值得注意的是,由于各地科学研究水平的差异,所研究的我国ESCC易感基因实验数据并不完整。因此,加强我国各食管癌高发区食管癌易感基因的研究非常重要,这将为食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断提供更为合理、科学的依据。

5 参考文献

- 何保昌,段广才,蔡琳,代敏.食管癌与p53突变和人乳头状肉瘤病毒感染.中国公共卫生 2007; 23: 915-917
- 张静. p53 Pro72Arg多态与中国南北食管/贲门癌遗传易感性的关联研究.汕头大学, 2008
- 寇瑛珊,张俭荣,陈国弟,伍仁,杨俊杰,蒋光亮,赵雍凡.食管上皮癌前期病变细胞p53基因的突变.四川大学学报(医学版) 2003; 34: 306-309
- Cao YY, Ge H, Chen LQ, Chen ZF, Wen DG, Li Y, Zhang JH. [Correlation of 53BP1 and p53 polymorphisms to susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma]. *Ai Zheng* 2007; 26: 1052-1057 [PMID: 17927872]
- Zhou L, Yuan Q, Yang M. A functional germline variant in the P53 polyadenylation signal and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 2012; 506: 295-297 [PMID: 22800615 DOI: 10.1016/j.gene.2012.07.007]
- 王波,张艳,徐德忠,王安辉,张磊,孙长生,李良寿.食管癌p53基因第5外显子突变影响因素的病例对照研究.世界华人消化杂志 2004; 12: 2478-2480
- Ma J, Zhang J, Ning T, Chen Z, Xu C. Association of genetic polymorphisms in MDM2, PTEN and P53 with risk of esophageal squamous cell carcinoma. *J Hum Genet* 2012; 57: 261-264 [PMID: 22336889 DOI: 10.1038/jhg.2012.15]
- 舒青,马群凤,秦鸿雁,张宁.陕西汉族人群和食管癌患者Rb基因的多态性.第四军医大学学报 2001; 22: 86-87
- 马玉泉,杨晓光,刘晖,李保庆,刘俊峰. P21基因多态性与华北食管癌的相关性.第四军医大学学报 2007; 28: 2256-2258
- 齐奇,梁寒梅,章恒,吕怀盛,陈志强,叶晓锋,贾伟,裴秀英,高平,张艳丽,杨文君.宁夏汉族人群p21WAF1/CIP1基因codon31多态性与食管癌的关联研究.中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 5153-5157
- 刘莎,孙桂菊,胡旭,刘兰亭,徐华珠,开海涛. p21 WAF1基因第2外显子突变与食管癌病理特征相关性研究.山西医学杂志 2007; 36: 573-576
- Li Y, Zhang X, Huang G, Miao X, Guo L, Lin D, Lu SH. Identification of a novel polymorphism Arg-290Gln of esophageal cancer related gene 1 (ECRG1) and its related risk to esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2006; 27: 798-802 [PMID: 16267096 DOI: 10.1093/carcin/bgi258]
- Yue CM, Bi MX, Tan W, Deng DJ, Zhang XY, Guo LP, Lin DX, Lu SH. Short tandem repeat polymorphism in a novel esophageal cancer-related gene (ECRG2) implicates susceptibility to esophageal cancer in Chinese population. *Int J Cancer* 2004; 108: 232-236 [PMID: 14639608 DOI: 10.1002/ijc.11560]
- Zhang J, Li Y, Wang R, Wen D, Sarbia M, Kuang G, Wu M, Wei L, He M, Zhang L, Wang S. Association of cyclin D1 (G870A) polymorphism with susceptibility to esophageal and gastric cardiac carcinoma in a northern Chinese population. *Int J Cancer* 2003; 105: 281-284 [PMID: 12673692 DOI: 10.1002/ijc.11067]
- Yu C, Lu W, Tan W, Xing D, Liang G, Miao X, Lin D. Lack of association between CCND1 G870A polymorphism and risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 176 [PMID: 12582032]
- 李睿,张林,刘湛,侯翠萍,张业霞,王宗军,朱树国. MDM2基因多态性与鲁西南汉族人群食管鳞癌风险关联.中国热带医学 2011; 11: 1066-1068
- Tang RG, Wei YS, Chen HM, Fang WZ, Long XK, Yuan XH. [Serum level and genotype of interleukin-6 in patients with esophageal cancer]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2007; 87: 1126-1128 [PMID: 17672997]
- Wei YS, Lan Y, Liu YG, Tang H, Tang RG, Wang JC. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Acta Oncol* 2007; 46: 1090-1096 [PMID: 17851835 DOI: 10.1080/02841860701373595]
- Tao YP, Wang WL, Li SY, Zhang J, Shi QZ, Zhao F, Zhao BS. Associations between polymorphisms in IL-12A, IL-12B, IL-12Rβ1, IL-27 gene and serum levels of IL-12p40, IL-27p28 with esophageal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1891-1900 [PMID: 22740240 DOI: 10.1007/s00432-012-1269-0]
- Chu H, Cao W, Chen W, Pan S, Xiao Y, Liu Y, Gu H, Guo W, Xu L, Hu Z, Shen H. Potentially functional polymorphisms in IL-23 receptor and risk of esophageal cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2012; 130: 1093-1097 [PMID: 21484795 DOI: 10.1002/ijc.26130]
- 杜卫萍. 干扰素-γ、白介素-10基因多态性和环境因素联合作用与食管癌关系的研究.泰山医学院, 2010
- Zhang CF, Cao BW, Lu ZM, Xing HP, Cui JG, Ning T, Ke Y. [Relationship between polymorphism of IRF-3 gene codon 427 and esophageal cancer in Anyang population of China]. *Beijing Daxue Xuebao* 2004; 36: 345-347 [PMID: 15303122]
- Hu SP, Zhou GB, Luan JA, Chen YP, Xiao DW, Deng YJ, Huang LQ, Cai KL. Polymorphisms of

- HLA-A and HLA-B genes in genetic susceptibility to esophageal carcinoma in Chaoshan Han Chinese. *Dis Esophagus* 2010; 23: 46-52 [PMID: 19392852 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00965.x]
- 24 程晓丽, 陈自平, 徐昌青, 宁涛. 食管癌易感性与细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4基因多态性的关系. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 1264-1267
 - 25 唐任光, 韦叶生, 韦彩成, 陈宏明, 黄艳青, 李燕飞. 转化生长因子 β 1基因多态性与食管癌的关系. *中国实验诊断学杂志* 2010; 14: 415-417
 - 26 唐任光, 龙显科, 袁锡华, 陆启峰. TGF- β 1基因启动子-800G/A、-509C/T多态性与食管癌的研究. *中国免疫学杂志* 2005; 21: 124-126
 - 27 Jin G, Deng Y, Miao R, Hu Z, Zhou Y, Tan Y, Wang J, Hua Z, Ding W, Wang L, Chen W, Shen J, Wang X, Xu Y, Shen H. TGF β 1 and TGF β 2 functional polymorphisms and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control analysis in a Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 345-351 [PMID: 17680270 DOI: 10.1007/s00432-007-0290-1]
 - 28 Wei YS, Xu QQ, Wang CF, Pan Y, Liang F, Long XK. Genetic variation in transforming growth factor-beta1 gene associated with increased risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Tissue Antigens* 2007; 70: 464-469 [PMID: 17990985 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2007.00935.x]
 - 29 董稚明, 郭伟, 王珩, 郭艳丽, 王士杰, 杨植彬. 转化生长因子 β I型受体多态性与食管鳞状细胞癌发病风险的关联. *癌变·畸变·突变* 2011; 23: 16-20
 - 30 Cui L, Pan XM, Ma CF, Shang-Guan J, Yu HB, Chen GX, Wang J. Association between epidermal growth factor polymorphism and esophageal squamous cell carcinoma susceptibility. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 40-45 [PMID: 19172394 DOI: 10.1007/s10620-008-0700-5]
 - 31 董长青, 刘超, 马少君, 顾海勇. 胰岛素样生长因子1基因多态性与食管癌遗传易感性的关系. *江苏大学学报(医学版)* 2011; 21: 535-537
 - 32 Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1030-1036 [PMID: 15240787 DOI: 10.1093/jnci/djh187]
 - 33 Xiong G, Guo H, Wang K, Hu H, Wang D, Xu X, Guan X, Yang K, Bai Y. Polymorphisms of decoy receptor 3 are associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han. *Tumour Biol* 2010; 31: 443-449 [PMID: 20567955 DOI: 10.1007/s13277-010-0053-5]
 - 34 Wang LD, Zhou FY, Li XM, Sun LD, Song X, Jin Y, Li JM, Kong GQ, Qi H, Cui J, Zhang LQ, Yang JZ, Li JL, Li XC, Ren JL, Liu ZC, Gao WJ, Yuan L, Wei W, Zhang YR, Wang WP, Sheyhidin I, Li F, Chen BP, Ren SW, Liu B, Li D, Ku JW, Fan ZM, Zhou SL, Guo ZG, Zhao XK, Liu N, Ai YH, Shen FF, Cui WY, Song S, Guo T, Huang J, Yuan C, Huang J, Wu Y, Yue WB, Feng CW, Li HL, Wang Y, Tian JY, Lu Y, Yuan Y, Zhu WL, Liu M, Fu WJ, Yang X, Wang HJ, Han SL, Chen J, Han M, Wang HY, Zhang P, Li XM, Dong JC, Xing GL, Wang R, Guo M, Chang ZW, Liu HL, Guo L, Yuan ZQ, Liu H, Lu Q, Yang LQ, Zhu FG, Yang XF, Feng XS, Wang Z, Li Y, Gao SG, Qige Q, Bai LT, Yang WJ, Lei GY, Shen ZY, Chen LQ, Li EM, Xu LY, Wu ZY, Cao WK, Wang JP, Bao ZQ, Chen JL, Ding GC, Zhuang X, Zhou YF, Zheng HF, Zhang Z, Zuo XB, Dong ZM, Fan DM, He X, Wang J, Zhou Q, Zhang QX, Jiao XY, Lian SY, Ji AF, Lu XM, Wang JS, Chang FB, Lu CD, Chen ZG, Miao JJ, Fan ZL, Lin RB, Liu TJ, Wei JC, Kong QP, Lan Y, Fan YJ, Gao FS, Wang TY, Xie D, Chen SQ, Yang WC, Hong JY, Wang L, Qiu SL, Cai ZM, Zhang XJ. Genome-wide association study of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese subjects identifies susceptibility loci at PLCE1 and C20orf54. *Nat Genet* 2010; 42: 759-763 [PMID: 20729853 DOI: 10.1038/ng.648]
 - 35 Hu H, Yang J, Sun Y, Yang Y, Qian J, Jin L, Wang M, Bi R, Zhang R, Zhu M, Sun M, Ma H, Wei Q, Jiang G, Zhou X, Chen H. Putatively functional PLCE1 variants and susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma (ESCC): a case-control study in eastern Chinese populations. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2403-2410 [PMID: 22203178 DOI: 10.1245/s10434-011-2160-y]
 - 36 Zhou RM, Li Y, Wang N, Liu BC, Chen ZF, Zuo LF. PLC- ϵ 1 gene polymorphisms significantly enhance the risk of esophageal squamous cell carcinoma in individuals with a family history of upper gastrointestinal cancers. *Arch Med Res* 2012; 43: 578-584 [PMID: 23079034 DOI: 10.1016/j.arcmed.2012.09.006]
 - 37 Wang LD, Bi X, Song X, Pohl NM, Cheng Y, Zhou Y, Shears S, Ansong E, Xing M, Wang S, Xu XC, Huang P, Xu L, Wang L, Fan Z, Zhao X, Dong H, Meltzer SJ, Ding I, Yang W. A sequence variant in the phospholipase C epsilon C2 domain is associated with esophageal carcinoma and esophagitis. *Mol Carcinog* 2013 Feb 6. [Epub ahead of print] [PMID: 23390063 DOI: 10.1002/mc.22016]
 - 38 Ji A, Wang J, Yang J, Wei Z, Lian C, Ma L, Ma L, Chen J, Qin X, Wang LD, Wei W. Functional SNPs in human C20orf54 gene influence susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 3207-3212 [PMID: 22471455]
 - 39 Ji AF, Wei W, Yang JZ, Wang JS, Zhao L, Wei ZB, Lian CH, Ma L, Ma L, Wang HL, Qin XQ, Wang LD. [The relationship between C20orf54 gene rs3746804 position single nucleotide polymorphism and susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2012; 51: 982-986 [PMID: 23327963]
 - 40 Wu C, Hu Z, He Z, Jia W, Wang F, Zhou Y, Liu Z, Zhan Q, Liu Y, Yu D, Zhai K, Chang J, Qiao Y, Jin G, Liu Z, Shen Y, Guo C, Fu J, Miao X, Tan W, Shen H, Ke Y, Zeng Y, Wu T, Lin D. Genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for esophageal squamous-cell carcinoma in Chinese populations. *Nat Genet* 2011; 43: 679-684 [PMID: 21642993 DOI: 10.1038/ng.849]
 - 41 Wu C, Kraft P, Zhai K, Chang J, Wang Z, Li Y, Hu Z, He Z, Jia W, Abnet CC, Liang L, Hu N, Miao X, Zhou Y, Liu Z, Zhan Q, Liu Y, Qiao Y, Zhou Y, Jin G, Guo C, Lu C, Yang H, Fu J, Yu D, Freedman ND, Ding T, Tan W, Goldstein AM, Wu T, Shen H, Ke Y, Zeng Y, Chanock SJ, Taylor PR, Lin D. Genome-wide association analyses of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese identify multiple susceptibility loci and gene-environment interactions. *Nat Genet* 2012; 44: 1090-1097 [PMID: 22960999 DOI: 10.1038/ng.2411]
 - 42 Gao Y, He Y, Xu J, Xu L, Du J, Zhu C, Gu H, Ma H, Hu Z, Jin G, Chen X, Shen H. Genetic variants at 4q21, 4q23 and 12q24 are associated with esophageal squamous cell carcinoma risk in a Chinese population. *Hum Genet* 2013; 132: 649-656 [PMID: 23430454]

应用要点

我国食管癌及其易感基因多态基因型的分布具有显著的地域性, 这对于食管癌的区域预防、监测、早期筛查乃至预后判断有着非常重要的指导意义。

■同行评价

本文主要针对近年中国汉族人群食管癌易感相关癌基因、抑癌基因和细胞因子等进行归纳、总结和分析,内容相对全面,有一定的科学价值。

- 43 Jin G, Ma H, Wu C, Dai J, Zhang R, Shi Y, Lu J, Miao X, Wang M, Zhou Y, Chen J, Li H, Pan S, Chu M, Lu F, Yu D, Jiang Y, Dong J, Hu L, Chen Y, Xu L, Shu Y, Pan S, Tan W, Zhou B, Lu D, Wu T, Zhang Z, Chen F, Wang X, Hu Z, Lin D, Shen H. Genetic variants at 6p21.1 and 7p15.3 are associated with risk of multiple cancers in Han Chinese. *Am J Hum Genet* 2012; 91: 928-934 [PMID: 23103227 DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.09.009]
- 44 Guo H, Wang K, Xiong G, Hu H, Wang D, Xu X, Guan X, Yang K, Bai Y. A functional variant in microRNA-146a is associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han. *Fam Cancer* 2010; 9: 599-603 [PMID: 20680470 DOI: 10.1007/s10689-010-9370-5]
- 45 谭家驹, 徐致祥. 改水预防食管癌、胃癌、肝癌研究. 北京: 中国华侨出版社, 2008
- 46 Wang D, Su M, Tian D, Liang S, Zhang J. Associations between CYP1A1 and CYP2E1 polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in Chaoshan and Taihang areas of China. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 276-282 [PMID: 22088806 DOI: 10.1016/j.canep.2011.10.008]
- 47 刘淑慧, 苏敏, 程璐, 孙蓓丽, 陆祖宏. 潮汕地区食管癌患者O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶基因多态性的分析. 癌变·畸变·突变 2006; 18: 102-104
- 48 Huang H, Su M, Li X, Li H, Tian D, Gao Y, Guo Y. Y-chromosome evidence for common ancestry of three Chinese populations with a high risk of esophageal cancer. *PLoS One* 2010; 5: e11118 [PMID: 20559544 DOI: 10.1371/journal.pone.0011118]
- 49 Li XY, Guo YB, Su M, Cheng L, Lu ZH, Tian DP. Association of mitochondrial haplogroup D and risk of esophageal cancer in Taihang Mountain and Chaoshan areas in China. *Mitochondrion* 2011; 11: 27-32 [PMID: 20601191 DOI: 10.1016/j.mito.2010.06.005]
- 50 李晓昀, 苏敏, 黄海花, 李辉, 田东萍, 高玉霞. 潮汕人与广府、客家人母系遗传背景差异的分析. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 664-668
- 51 Li XY, Su M, Huang HH, Li H, Tian DP, Gao YX. mtDNA evidence: genetic background associated with related populations at high risk for esophageal cancer between Chaoshan and Taihang Mountain areas in China. *Genomics* 2007; 90: 474-481 [PMID: 17689918 DOI: 10.1016/j.ygeno.2007.06.006]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

● 消息 ●

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)。

JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展

王建强, 黄缘

王建强, 黄缘, 南昌大学第二附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

王建强, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由黄缘设计; 文献收集与写作由王建强完成; 黄缘负责审核.

通讯作者: 黄缘, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科. huang9815@yahoo.com

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-06-02

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang

Jian-Qiang Wang, Yuan Huang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Yuan Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. huang9815@yahoo.com

Received: 2013-05-14 Revised: 2013-06-02

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

Primary liver cancer is a kind of malignant tumor that occurs in liver cells and bile duct epithelial cells. There is a great difference in the incidence of liver cancer among different countries and regions. In China, liver cancer is one of the most common malignant tumors and has the third highest mortality rate. About 110 thousand people die of liver cancer in China each year, accounting for 45% of worldwide deaths caused by liver cancer. The research on the biological behavior of liver cancer has been widely carried out, and the relationship between the janus kinase-signal transducers and activators of transcription (JAK-STAT) signal pathway, which is activated in many types of human malignant tumors and involved in the occurrence and development of tumors, and liver cancer has attracted wide attention. In this paper we will discuss the relationship between the JAK-STAT signal pathway and biological behavior of liver cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: JAK-STAT signal pathway; Liver cancer

Wang JQ, Huang Y. Role of the JAK-STAT signal pathway in the development and progression of liver cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(21): 2051-2056 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2051>

摘要

原发性肝癌是指由肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤, 简称肝癌. 其发生率在各国和地区间差异很大, 是我国常见的恶性肿瘤之一, 死亡率高, 在消化系恶性肿瘤中仅次于胃、食管而居第3位. 我国每年约有11万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡数的45%. 于是针对肝癌生物学行为的研究迅速开展起来, 其中JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路在大量人类恶性肿瘤中被激活, 参与肿瘤的发生、发展, 成为目前肿瘤信号传导通路研究的热点. 本文就此信号通路在肝癌生物学行为相关性的研究进展进行简要综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: JAK-STAT信号通路; 肝癌

核心提示: 本文综述了JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路在肝癌发生、发展及侵袭转移中作用的研究进展, 简要阐述了针对JAK-STAT信号传导通路的肝癌治疗策略, 为肝癌的发生发展机制提供了理论基础, 为肝癌的治疗提供了新的方向.

王建强, 黄缘. JAK-STAT信号通路在肝癌发生发展中作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2051-2056 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2051>

0 引言

肝癌是常见的消化系恶性肿瘤, 可发生于任何年

■背景资料

原发性肝癌是一种常见的消化系恶性肿瘤. 临床资料显示, 其发生率和死亡率呈上升趋势. 目前, 早期肝癌尽量手术切除, 中晚期采取综合治疗模式虽可以提高患者的5年生存率, 但仍不能有效降低肝癌的复发. 明确原发性肝癌发生、发展的机制可为靶基因治疗提供保障.

■同行评议者

王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗科

■ 研发前沿

至今, JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)信号通路如何促进肝癌发生、发展的机制尚未被完全认识, 有待我们进一步去探索. 后续展望包括基因敲除动物模型的建立, 不同信号通路相互交叉的研究, 靶基因治疗新药物的开发等可为明确肝癌的发生机制及治疗奠定基础.

龄, 以40-49岁为最多, 多见于男性, 男女比例为2-5:1. 越来越多的临床资料显示, 肝癌的发病率呈上升趋势, 年轻化趋势. 目前, 早期肝癌尽量手术切除, 中晚期采取综合治疗模式仍是肝癌的主要治疗策略. 这虽然可以提高患者的5年生存率, 但仍不能有效降低肝癌的复发. 众多的基础和临床研究提示, 在不久的将来, 靶基因治疗将成为肝癌的主要治疗策略. 因此, 明确肝癌的发生发展及其相关信号通路是目前的首要任务.

1 JAK-STAT信号传导通路

JAK酪氨酸蛋白激酶-信号传导和转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)途径, 于1994年由Darnell等^[1]发现, 其为一条新的极为快速的信号通路, 可以将细胞外信号传递到细胞核, 是通过受体-酪氨酸激酶-信号传导和转录激活因子-靶基因的激活来实现, 最终引发生物学效应.

1.1 JAK-STAT信号传导通路的组成及功能 JAKs家族属于非受体型酪氨酸激酶, 迄今为止发现4个家族成员: JAK1、JAK2、JAK3和TYK2, 大小各异, 分子量在120-140 kDa之间, 在进化中高度保守. 分子结构中有7个JH结构域, 包括具有催化功能的JH1, 与催化功能相关的JH2, 而JH3-JH7则可能在受体与JAKs偶联过程中发挥作用. JAK1、JAK2和TYK2在大多数组织中都有表达, 而JAK3仅仅在淋巴组织中表达^[2-4].

信号传导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STATs)是一类胞质蛋白, 于1992年首次被鉴定, 可与靶基因结合, 是JAKs的下游底物. 迄今发现7个成员: STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b和STAT6, 一般具有750-850个氨基酸. 具有7个结构域: 羧基末端转录活化结构域, DNA结合结构域, 酪氨酸磷酸化位点结构域, SH2结构域, 连接结构域, 螺旋-螺旋结构域(coiled-coil结构域), 氨基末端结构域^[2]. 其中DNA结合域和SH2结构域的高度相似性, 有助于STATs的活化和二聚体的形成. 不同的细胞外信号决定了氨基酸序列和组织分布的特异性. 一般情况下, 处于细胞质中的非活化的STATs和处于细胞核中的活化的STATs处于动态平衡中, 一旦细胞受到刺激, 这种平衡就被打破, 结果是STATs活化并转入细胞核. 不同的STATs常有相同的DNA结合活性基序, 但最佳的结合位点存在差异.

生理情况下, JAK-STAT信号通路在细胞

生长、分化^[5], 组织器官形成, 免疫防御屏障完善等方面起着决定性作用, 其激活是短暂迅速的. 目前, 在人类多种实体肿瘤(如乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等^[6-8])和血液病(如淋巴瘤^[9,10])的研究中发现, JAK-STAT信号通路组成性激活, 参与了肿瘤的发生、发展、浸润和转移.

1.2 JAK-STAT信号传导通路的激活 经典的JAK-STAT信号通路最初由配体与细胞膜上的受体结合所激活. 受体与配体结合后, 可导致受体二聚化, 从而激活与受体相结合的JAK激酶, 进而磷酸化受体上的酪氨酸位点, 使其产生与STATs结合的区域. 结合后的STATs最终在C端大概700个氨基酸的位点被JAK磷酸化. 磷酸化的STATs蛋白通过SH2结构域形成二聚体, 进而转入细胞核, 与靶基因DNA调控区域结合, 最终发挥信号传导作用. STATs的转录活性是由STATs的内在性质所决定, 主要表现在共活化因子的招募和染色质的修饰上. 常见的细胞外信号包括: 细胞因子[如干扰素- α (interferon- α , IFN- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)]、受体酪氨酸激酶[胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等]、非受体型酪氨酸激酶(Abl、Src等)^[11-16].

1.3 JAK-STAT信号传导通路的调节 JAK-STAT信号通路涉及诸多环节, 一般是指从受体和配体结合直至靶基因的转录. 任何环节的调节异常都会影响整条通路的传导.

1.3.1 正性调节: JAK-STAT信号通路的正性调节可以使该通路处于异常活化状态, 影响机体细胞正常的生理代谢功能. 如在受体水平, 当其与相应的配体结合并使自身活化后, 可通过交互磷酸化作用使邻近受体活化, 进而加强通路传导; 或通过下调非特异性抑制因子使信号通路传导加强. 另外, 对于STATs分子, 翻译后的修饰可使其核内转录活性得以加强, 如STAT3分子, 其第727位丝氨酸残基的磷酸化可使得STAT3分子的核内转录活性上调^[17]. 相似报道指出, 索拉非尼可以通过减少STAT3在727位置上的翻译后修饰而降低其转录活性, 最终抑制癌细胞的增殖^[18].

1.3.2 负性调节: JAK-STAT信号通路的负性调节对于机体细胞维持正常生理代谢是必不可少的. 正常细胞中, 存在3类负性调节蛋白, 即SOCS(suppressors of cytokine signaling)、PIAS(protein inhibitors of activated stats)和PTP(protein tyrosine phosphatases).

SOCS家族有8个成员(SOCS1-7、CIS), 分

子结构中都包含一个C端SOCS盒和一个SH2结构域。当细胞因子信号激活JAK-STAT信号通路的同时, 又可通过STAT依赖途径诱导SOCS蛋白高表达, 进而使该通路受到特异性抑制, 从而构成一负反馈调节环, 致使JAKs失活, 阻碍STATs在受体结合位点与受体结合, 最终使该信号通路介导的生物学效应处于动态平衡。如SOCS1的SH2结构域与JAKs结合后, 可抑制JAK活化, 而SOCS3在Tyr203和221位点被JAKs激活后, 可与活化的细胞因子受体胞浆内组分结合, 从而抑制JAKs的募集; CIS蛋白则是通过与STATs竞争磷酸化受体上的酪氨酸结合位点发挥抑制作用。在癌细胞的研究中发现, SOCS蛋白的过表达, 可以抑制STATs的活性, 从而诱导细胞凋亡。相反, SOCS蛋白的缺失, 则可导致STAT3过表达, 从而导致恶性肿瘤(如肝癌)的发生^[11,19,20]。

PIAS家族有4个成员, PIAS1、PIAS2(PIASx)、PIAS3和PIAS4(PIASy), 一般具有507-650个氨基酸。有4个共同的结构域: N端SAP结构域及LXXLL调节基序, “PINIT”结构域, RING型锌指结构域和AD结构域。PIAS2和PIAS3可分别与STAT4和STAT3结合, 而PIAS1和PIAS4可与STAT1结合。PIAS1和PIAS3分别与激活的STAT1和STAT3相互作用, 作为构架蛋白, 与STAT1及STAT3二聚体特异性结合形成复合物, 遮蔽他们与DNA的结合功能, 从而抑制转录。这种阻断转录因子与靶DNA结合的方式不依赖SUMO化。PIAS2和PIAS4则是通过募集抑制分子(如组蛋白脱乙酰基酶类)来抑制STAT4及STAT1的转录活性^[21-25]。

PTP包括SHP1、SHP2、CD45、PTP1B、T-cell(TC-PTP)、PTPRT、PTPBL。其中SHP-1最具代表性, 他可与磷酸化的受体或JAK结合而使这些活化的分子去磷酸化, 阻断信号通路的活化。SHP2可通过对STAT1的脱磷酸化发挥对INF诱导的JAK-STAT信号通路的负性调节作用; 同样, SHP2的过表达可以加速STAT5的脱磷酸化作用。也有研究提示, SHP2可以对STAT3的活性进行负向调节^[26]。

此外, 受体内存作用也参与了JAK-STAT信号传导通路的负向调节。此作用是通过受体与配体结合后, 受体发生一系列磷酸化而实现, 或是直接实现^[27]。

2 JAK-STAT信号传导通路 with 肝癌

近来, 越来越多的研究报道发现肝癌的生物学行

为与JAK-STAT信号通路的异常激活密切相关。

2.1 肝癌中JAK-STAT信号传导通路的异常激活 研究者通过对大量肝癌组织样本研究发现, 其中60%存在STAT3高表达^[28]。同样, Calvisi、有研究^[29-31]指出, 人肝癌组织中STAT1、STAT3、STAT5的活化水平明显高于癌旁组织, 表达增强的STAT3蛋白与肝癌的病理分级和临床分期正相关, 磷酸化STAT3(p-STAT3)水平越高, 预后越差。相似报道指出, p-STAT3的阳性表达与肝癌多结节的发生相关。

2.2 JAK-STAT信号传导通路对细胞凋亡的影响 JAK/STAT3信号通路异常激活后, p-STAT3可与核内特异的DNA结合, 直接或间接地上调抑制凋亡基因的表达, 从而调控细胞增殖和凋亡。如生存素(Survivin), 凋亡抑制蛋白家族的新成员, 是目前发现最强的凋亡抑制因子, STAT3可通过与其启动子结合, 介导后者的活性, 促进Survivin的表达, 从而发挥细胞增殖和凋亡抑制作用^[32-34]。侯静等^[35]发现, STAT3抑制剂Piceatannol可以通过阻断JAK-STAT3信号途径抑制人原发性肝癌细胞(HepG2和Huh7)的增殖和诱导凋亡。同样, NSC74859(STAT3抑制剂)可以使二乙基亚硝胺诱导的肝癌小鼠模型中癌细胞凋亡, 从而抑制肿瘤的发生发展^[31]。

2.3 JAK-STAT信号传导通路对细胞周期的影响 研究发现, 在原B(proB)细胞系(BAF/B03)中, STAT3的缺失并不影响细胞的生长, 但可阻止细胞从G₁期进入S期, 这与c-myc不能被STAT3上调有关^[36]。相关研究还发现STAT3可以上调细胞周期素D2, D3以及下调P21等一系列细胞周期相关蛋白。

另外, 原癌基因Pim家族是促进肿瘤细胞的增殖和浸润方面的关键调控分子, 具有加速细胞周期进程的效应, 可能与激活STAT3信号途径, 促进细胞G₁/S周期的进程有关^[37,38]。

STAT5是IGF-1的上游基因, STAT5基因的突变, 可导致IGF-1缺失, 从而引起肝脏脂肪变性, 肝纤维化, 最终导致肝癌的发生, 而此过程与STAT5缺失导致细胞周期紊乱密切相关^[39,40]。

2.4 JAK-STAT信号传导通路 with 肝癌的浸润、转移 肿瘤细胞通过粘附、降解和移动3个过程完成邻近侵袭和远处转移, 而此过程与JAK-STAT信号通路密切相关。

随着细胞外基质的降解, 肿瘤细胞开始浸润正常组织和转移。而此过程依赖基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP), 尤其是

■ 相关报道

AG490是选择性JAK酪氨酸激酶抑制剂, 可通过阻断JAK激酶活化, 影响STAT激活, 进而抑制肿瘤细胞生长, 诱导细胞凋亡。肝癌小鼠模型中, NSC74859(STAT3抑制剂)可以诱导的癌细胞凋亡, 抑制肿瘤发生发展。

■创新盘点

以往的研究提示, JAK-STAT信号通路与人类很多肿瘤存在相关性, 但与肝癌的报道较少. 本文从肝癌的发生、发展及治疗等方面分析其与JAK-STAT信号通路之间存在的联系, 为明确肝癌的生物学行为提供了较为全面的理论依据.

MMP-2和MMP-9^[41]. MMPs具有转录激活蛋白-1结合位点, 表达主要受JAK/STAT3信号传导通路的调节. 研究发现, 原发性肝癌中活化的STAT3蛋白能够上调MMP-2, 从而使MMP-2处于高表达状态^[42,43]. 相反, 刘波等^[44]用AG490(STAT3抑制剂)处理肝癌细胞(SMMC-7721), 结果发现AG490可通过抑制STAT3蛋白的激活下调MMP-2的表达而降低肿瘤的侵袭能力.

细胞外基质降解后, 肿瘤细胞运动能力开始成为影响肿瘤浸润转移的重要因素, 且两者常常表现出正相关. 已有研究提示, JAK-STAT3信号通路的过度激活有利于细胞伸出突起和伪足, 从而加速细胞迁移^[45]. 研究发现, STAT3参与斑马鱼发育早期原肠运动中细胞迁移的调控^[46].

肿瘤的生长需要大量的氧气和营养物质. 随着肿瘤的生长, 如果没有新生血管长入, 肿瘤组织将会发生退化. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可刺激血管内皮细胞增殖、迁移、诱导血管形成, 在恶性肿瘤的浸润和转移中有重要意义. 现在已经证实, STAT3可与VEGF启动子相结合, 促进VEGF的转录表达. 邱伟华等^[47]研究发现, S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAME)通过抑制STAT3的组成性活化而降低VEGF的高表达状态.

因此, 肿瘤中组成性激活的JAK-STAT信号通路可以通过降解细胞外基质, 增强细胞运动能力及促进新生血管形成等方式以提高肿瘤侵袭和转移能力.

3 针对JAK-STAT信号传导通路的肝癌治疗策略

目前抑制JAK-STAT信号通路活化的策略主要有: (1)酪氨酸激酶抑制剂: 研究证实, AG490是选择性JAK酪氨酸激酶抑制剂, 可通过阻断JAK激酶活化, 影响STAT激活, 进而抑制肿瘤细胞生长, 诱导细胞凋亡; (2)显性负性蛋白: 如STAT3B, 因缺乏转录激活区(transcriptional activation domain, TAD), 故不能促进靶基因的转录, 但可与活化的STAT3竞争相应的反应元件^[48]; (3)寡核苷酸: 反义寡核苷酸: 含有12-25个碱基, 能与STAT3 mRNA结合阻止STAT3的翻译; 诱饵寡核苷酸: STAT3诱饵寡核苷酸, 是指一段双链寡核苷酸, 能竞争性结合活化的STAT3, 从而阻断STAT3信号途径; (4)RNA干扰: RNA干扰(RNA interference, RNAi)是由双链RNA引发的转录后基因沉默, 可针对信号通路的多个基因或者基因簇的共有序列来同时抑制多个基因的表达, 最

终抑制肿瘤生长. 目前RNAi技术的相关研究已取得了良好的效果^[49,50]; (5)氨基酸核酸适配体: 一种大小为20个氨基酸的短肽, 可选择性的阻断靶蛋白的功能区域, 如可阻断STAT3的磷酸化、二聚化或DNA结合域从而抑制其传导功能^[27]; (6)受体拮抗剂: 现已知多种细胞外信号是通过与其受体结合后激活JAK-STAT信号传导通路, 因此, 理论上应用受体拮抗剂可以阻断该信号通路的激活.

4 结论

JAK-STAT及其相关研究取得了重大的进展. 研究发现, JAK-STAT信号传导通路的组成性激活特别是其中STAT3的异常活化, 与肝癌的发生、发展、侵袭和转移密切相关. 所以正确认识JAK-STAT信号通路的激活、正向和负性调节及其对于肝癌的影响将对研究肝癌的发生、发展机制及治疗具有重要意义.

5 参考文献

- 1 Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994; 264: 1415-1421 [PMID: 8197455 DOI: 10.1126/science.8197455]
- 2 Schindler C, Plumlee C. Interferons pen the JAK-STAT pathway. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 311-318 [PMID: 18765289 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.08.010]
- 3 Saharinen P, Takaluoma K, Silvennoinen O. Regulation of the Jak2 tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 3387-3395 [PMID: 10779328 DOI: 10.1128/MCB.20.10.3387-3395.2000]
- 4 Pellegrini S, Dusanter-Fourt I. The structure, regulation and function of the Janus kinases (JAKs) and the signal transducers and activators of transcription (STATs). *Eur J Biochem* 1997; 248: 615-633 [PMID: 9342212 DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.00615.x]
- 5 Williams JG. STAT signalling in cell proliferation and in development. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 10: 503-507 [PMID: 10980427 DOI: 10.1016/S0959-437X(00)00119-2]
- 6 Proietti C, Salatino M, Rosembli C, Carnevale R, Pecci A, Kornblihtt AR, Molinolo AA, Frahm I, Charreau EH, Schillaci R, Elizalde PV. Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) via a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 4826-4840 [PMID: 15923602 DOI: 10.1128/MCB.25.12.4826-4840.2005]
- 7 Lin Q, Lai R, Chirieac LR, Li C, Thomazy VA, Grammatikakis I, Rassidakis GZ, Zhang W, Fujio Y, Kunisada K, Hamilton SR, Amin HM. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells. *Am J Pathol* 2005; 167: 969-980 [PMID: 16192633 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)61187-X]

- 8 Abdulghani J, Gu L, Dagvadorj A, Lutz J, Leiby B, Bonuccelli G, Lisanti MP, Zellweger T, Alanen K, Mirtti T, Visakorpi T, Bubendorf L, Nevalainen MT. Stat3 promotes metastatic progression of prostate cancer. *Am J Pathol* 2008; 172: 1717-1728 [PMID: 18483213 DOI: 10.2353/ajpath.2008.071054]
- 9 Derenzini E, Younes A. Targeting the JAK-STAT pathway in lymphoma: a focus on pacritinib. *Expert Opin Investig Drugs* 2013; 22: 775-785 [PMID: 23442043 DOI: 10.1517/13543784.2013.775244]
- 10 Mitchell TJ, John S. Signal transducer and activator of transcription (STAT) signalling and T-cell lymphomas. *Immunology* 2005; 114: 301-312 [PMID: 15720432 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02091.x]
- 11 Morales JK, Falanga YT, Depczynski A, Fernando J, Ryan JJ. Mast cell homeostasis and the JAK-STAT pathway. *Genes Immun* 2010; 11: 599-608 [PMID: 20535135 DOI: 10.1038/gene.2010.35]
- 12 Li WX. Canonical and non-canonical JAK-STAT signaling. *Trends Cell Biol* 2008; 18: 545-551 [PMID: 18848449 DOI: 10.1016/j.tcb.2008.08.008]
- 13 李焱. EGFR及其下游通路在胶质瘤治疗中的研究进展. *肿瘤防治研究* 2011; 38: 1204-1206
- 14 Horvath CM, Darnell JE. The state of the STATs: recent developments in the study of signal transduction to the nucleus. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 233-239 [PMID: 9069254 DOI: 10.1016/S0955-0674(97)80067-1]
- 15 Guarino M. Src signaling in cancer invasion. *J Cell Physiol* 2010; 223: 14-26 [PMID: 20049846 DOI: 10.1002/jcp.22011]
- 16 Wasyluk C, Schlumberger SE, Criqui-Filipe P, Wasyluk B. Sp100 interacts with ETS-1 and stimulates its transcriptional activity. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 2687-2702 [PMID: 11909962 DOI: 10.1128/MCB.22.8.2687-2702.2002]
- 17 Yang E, Henriksen MA, Schaefer O, Zakharova N, Darnell JE. Dissociation time from DNA determines transcriptional function in a STAT1 linker mutant. *J Biol Chem* 2002; 277: 13455-13462 [PMID: 11834743 DOI: 10.1074/jbc.M112038200]
- 18 Gu FM, Li QL, Gao Q, Jiang JH, Huang XY, Pan JF, Fan J, Zhou J. Sorafenib inhibits growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by blocking STAT3. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3922-3932 [PMID: 22025881 DOI: 10.3748/wjg.v17.i34.3922]
- 19 Croker BA, Kiu H, Nicholson SE. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 414-422 [PMID: 18708154 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.07.010]
- 20 Darnell JE. Validating Stat3 in cancer therapy. *Nat Med* 2005; 11: 595-596 [PMID: 15937466 DOI: 10.1038/nm0605-595]
- 21 Shuai K, Liu B. Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 593-605 [PMID: 16056253 DOI: 10.1038/nri1667]
- 22 张露萍, 马彬, 郑英. PIAS蛋白家族的研究进展. *生命科学* 2010; 22: 959-964
- 23 Liu B, Gross M, ten Hoeve J, Shuai K. A transcriptional corepressor of Stat1 with an essential LXXLL signature motif. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 3203-3207 [PMID: 11248056 DOI: 10.1073/pnas.051489598]
- 24 Arora T, Liu B, He H, Kim J, Murphy TL, Murphy KM, Modlin RL, Shuai K. PIASx is a transcriptional co-repressor of signal transducer and activator of transcription 4. *J Biol Chem* 2003; 278: 21327-21330 [PMID: 12716907 DOI: 10.1074/jbc.C300119200]
- 25 Palvimo JJ. PIAS proteins as regulators of small ubiquitin-related modifier (SUMO) modifications and transcription. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1405-1408 [PMID: 18031232 DOI: 10.1042/BST0351405]
- 26 Xu D, Qu CK. Protein tyrosine phosphatases in the JAK/STAT pathway. *Front Biosci* 2008; 13: 4925-4932 [PMID: 18508557 DOI: 10.2741/3051]
- 27 Groner B, Lucks P, Borghouts C. The function of Stat3 in tumor cells and their microenvironment. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 341-350 [PMID: 18621135 DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.06.005]
- 28 He G, Karin M. NF- κ B and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res* 2011; 21: 159-168 [PMID: 21187858 DOI: 10.1038/cr.2010.183]
- 29 Calvisi DF, Ladu S, Gorden A, Farina M, Conner EA, Lee JS, Factor VM, Thorgeirsson SS. Ubiquitous activation of Ras and Jak/Stat pathways in human HCC. *Gastroenterology* 2006; 130: 1117-1128 [PMID: 16618406 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.006]
- 30 Zhang B, Zhong DW, Wang QW, Miao XY, Dai WD, Liu C, Pan KH. [Study on correlation of JAK/STAT signal pathway with progression and prognosis in hepatocellular carcinoma]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2010; 26: 368-370, 373 [PMID: 20368117]
- 31 Wu WY, Li J, Wu ZS, Zhang CL, Meng XL. STAT3 activation in monocytes accelerates liver cancer progression. *BMC Cancer* 2011; 11: 506 [PMID: 22136659 DOI: 10.1186/1471-2407-11-506]
- 32 潘颖, 叶新青, 潘聪慧, 陈述政. 乳腺癌组织Survivin和Ki-67的表达情况及其临床意义. *放射免疫学杂志* 2009; 22: 522-524
- 33 Gu L, Chiang KY, Zhu N, Findley HW, Zhou M. Contribution of STAT3 to the activation of survivin by GM-CSF in CD34+ cell lines. *Exp Hematol* 2007; 35: 957-966 [PMID: 17533050 DOI: 10.1016/j.exphem.2007.03.007]
- 34 Delvaeye M, De Vriese A, Zwerts F, Betz I, Moons M, Autiero M, Conway EM. Role of the 2 zebrafish survivin genes in vasculo-angiogenesis, neurogenesis, cardiogenesis and hematopoiesis. *BMC Dev Biol* 2009; 9: 25 [PMID: 19323830 DOI: 10.1186/1471-213X-9-25]
- 35 侯静, 唐大年, 许媛, 贺修文, 韦军民. STAT3抑制剂对人原发性肝癌细胞生长的影响. *中华实验外科杂志* 2010; 27: 1822-1824
- 36 Fukada T, Ohtani T, Yoshida Y, Shirogane T, Nishida K, Nakajima K, Hibi M, Hirano T. STAT3 orchestrates contradictory signals in cytokine-induced G1 to S cell-cycle transition. *EMBO J* 1998; 17: 6670-6677 [PMID: 9822610 DOI: 10.1093/emboj/17.22.6670]
- 37 Shirogane T, Fukada T, Muller JM, Shima DT, Hibi M, Hirano T. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis. *Immunity* 1999; 11: 709-719 [PMID: 10626893 DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80145-4]
- 38 Bachmann M, Mörröy T. The serine/threonine kinase Pim-1. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 726-730 [PMID: 15694833 DOI: 10.1016/j.biocel.2004.11.005]
- 39 Yu JH, Zhu BM, Wickre M, Riedlinger G, Chen W, Hosui A, Robinson GW, Hennighausen L. The transcription factors signal transducer and activator of transcription 5A (STAT5A) and STAT5B negatively regulate cell proliferation through the activation of cyclin-dependent kinase inhibitor 2b (Cdkn2b) and

■应用要点

JAK-STAT信号通路及明确JAK-STAT信号通路的调节将为肝癌的治疗提供新方向。

■同行评价

本文描述JAK-STAT信号传导通路的组成性激活特别是STAT3的异常活化,与肝癌的发生、发展、侵袭和转移的相关性。JAK-STAT信号通路的激活、正向和负性调节对于肝癌的发生、发展机制及治疗,具有重要指导意义。

- Cdkn1a expression. *Hepatology* 2010; 52: 1808-1818 [PMID: 21038417 DOI: 10.1002/hep.23882]
- 40 Baik M, Yu JH, Hennighausen L. Growth hormone-STAT5 regulation of growth, hepatocellular carcinoma, and liver metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1229: 29-37 [PMID: 21793836 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06100.x]
- 41 Zhou L, Wang DS, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Dou KF. Downregulation of the Notch signaling pathway inhibits hepatocellular carcinoma cell invasion by inactivation of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor. *Oncol Rep* 2012; 28: 874-882 [PMID: 22736202 DOI: 10.3892/or.2012.1880]
- 42 Xie TX, Wei D, Liu M, Gao AC, Ali-Osman F, Sawaya R, Huang S. Stat3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis. *Oncogene* 2004; 23: 3550-3560 [PMID: 15116091 DOI: 10.1038/sj.onc.1207383]
- 43 Ogasawara S, Yano H, Momosaki S, Nishida N, Take moto Y, Kojiro S, Kojiro M. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in cultured hepatocellular carcinoma (HCC) cells and surgically resected HCC tissues. *Oncol Rep* 2005; 13: 1043-1048 [PMID: 15870919]
- 44 刘波, 王洪林, 宋立文. Janus激酶抑制剂AG490对人肝癌SMMC-7721细胞侵袭转移的影响. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1960-1963
- 45 Sano S, Itami S, Takeda K, Tarutani M, Yamaguchi Y, Miura H, Yoshikawa K, Akira S, Takeda J. Keratino-cyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. *EMBO J* 1999; 18: 4657-4668 [PMID: 10469645 DOI: 10.1093/emboj/18.17.4657]
- 46 Yamashita S, Miyagi C, Carmany-Rampey A, Shimizu T, Fujii R, Schier AF, Hirano T. Stat3 Controls Cell Movements during Zebrafish Gastrulation. *Dev Cell* 2002; 2: 363-375 [PMID: 11879641 DOI: 10.1016/S1534-5807(02)00126-0]
- 47 邱伟华, Bingsen Zhou, Dana Darwish, Peiguo G.Chu, Frank Luh, 陈皓, 杨卫平, 李宏为, Yun Yen. STAT3在SAmE抑制HepG2细胞VEGF表达中的作用. *上海交通大学学报(医学版)* 2006; 26: 576-580
- 48 Caldenhoven E, van Dijk TB, Solari R, Armstrong J, Raaijmakers JA, Lammers JW, Koenderman L, de Groot RP. STAT3beta, a splice variant of transcription factor STAT3, is a dominant negative regulator of transcription. *J Biol Chem* 1996; 271: 13221-13227 [PMID: 8675499]
- 49 Klosek SK, Nakashiro K, Hara S, Goda H, Hamakawa H. Stat3 as a molecular target in RNA interference-based treatment of oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 873-878 [PMID: 18813829]
- 50 Wang Y, Weng T, Gou D, Chen Z, Chintagari NR, Liu L. Identification of rat lung-specific microRNAs by microRNA microarray: valuable discoveries for the facilitation of lung research. *BMC Genomics* 2007; 8: 29 [PMID: 17250765 DOI: 10.1186/1471-2164-8-29]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

促凋亡基因PUMA与肿瘤

彭松林, 戴朝六

彭松林, 戴朝六, 中国医科大学附属盛京医院肝胆脾外科 辽宁省沈阳市 110004

彭松林, 副教授, 主要从事肝脏肿瘤和门脉高压症的相关研究.

盛京医院基金资助项目, No. MA70

作者贡献分布: 彭松林完成综述; 戴朝六负责审校.

通讯作者: 戴朝六, 教授, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院肝胆脾外科.

daicl@sj-hospital.org

电话: 024-9661531511

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Pro-apoptosis gene PUMA and cancer

Song-Lin Peng, Chao-Liu Dai

Song-Lin Peng, Chao-Liu Dai, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: the Shengjing Hospital Fund, No. MA70

Correspondence to: Chao-Liu Dai, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. daicl@sj-hospital.org

Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

The dysfunction of cell apoptosis signaling is involved in carcinogenesis. P53 up-regulated modulator of apoptosis (*PUMA*), a pro-apoptosis gene that has been found for a decade, encodes a protein that is one of Bcl-2 members and can induce apoptosis *via* the mitochondrial pathway. It is considered that mutation of the *PUMA* gene is not involved in carcinogenesis, because mutation of the *PUMA* gene has not been found in many types of tumors until now. The expression of PUMA protein is regulated transcriptionally *via* ER stress, p53, JNK, FOXO3a and E2F1 signaling or post-translationally by phosphorylation. Several studies have showed that the down-regulation of PUMA protein in cancer tissue is associated with carcinogenesis, lymph node metastasis and tumor prognosis, and that up-regulation of PUMA induces the inhibition of

cancer cell proliferation. Increasing new findings on the precise role of *PUMA* in the regulation of cancer development provide new insights into the potential use of *PUMA* as a target for the prevention and treatment of cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cancer; P53 up-regulated modulator of apoptosis; Apoptosis

Peng SL, Dai CL. Pro-apoptosis gene *PUMA* and cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2057-2062
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2057.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2057>

摘要

细胞凋亡信号通路和机制的异常是肿瘤得以发生发展的原因之一. p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, *PUMA*)是近十多年来新发现的一个促凋亡基因, 其编码的PUMA蛋白是Bcl-2家族成员之一, 经线粒体途径诱导细胞凋亡. 目前在多种肿瘤中未发现*PUMA*基因的突变, 提示*PUMA*基因突变与肿瘤的发生并无直接关联. PUMA蛋白的表达受到p53、内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等多个信号通路的转录调控和翻译后的磷酸化调节. 一些研究表明PUMA蛋白在肿瘤中的表达下降与肿瘤的形成、淋巴结转移、及预后有关, 而增加PUMA在肿瘤中的表达具有抑制肿瘤的作用. 随着对PUMA在肿瘤中表达异常的机制的深入研究, PUMA有望成为一个具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点.

© 2013版权归Baishideng所有.

关键词: 肿瘤; p53上调凋亡调控因子; 细胞凋亡

核心提示: 目前研究表明p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, *PUMA*)基因突变与肿瘤的发生并无直接关联. PUMA蛋白的表达受到p53、内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等多个信号通路的转录调控和翻

■背景资料

肿瘤细胞凋亡机制研究是目前肿瘤发生发展机制研究的一个热点之一, 而p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, *PUMA*)是细胞凋亡信号通路的一个重要因子, 在组织损伤、肿瘤发生发展过程中具有重要的作用.

■同行评议者

王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■ 研发前沿

目前关于PUMA研究的热点包括PUMA基因表达和蛋白功能的调控机制和PUMA表达对肿瘤的影响,且一些研究已初步阐述了其中机制;但不同肿瘤以及肿瘤在不同环境中PUMA的调控可能存在不同的机制,以及PUMA在肿瘤治疗中的价值,还有待进一步研究。

译后的磷酸化调节,而且PUMA蛋白的表达下降与肿瘤的形成、淋巴结转移、及预后密切相关。

彭松林, 戴朝六. 促凋亡基因PUMA与肿瘤. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2057-2062 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2057.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2057>

0 引言

肿瘤细胞凋亡机制的异常是导致肿瘤逃脱免疫细胞的攻击,产生免疫豁免,使肿瘤得以生存和发展的主要原因^[1-3],亦是导致肿瘤耐药性的重要因素之一^[4,5]。现已阐明细胞凋亡途径有3条:一条是通过死亡受体和caspase8的激活,称为外源途径/死亡受体途径^[6,7];一条是线粒体中细胞色素C的释放及接头蛋白Apaf21的激活,称为内源性途径/线粒体途径^[7],另一条是近年来发现的内质网途径^[8-10]。以上3种途径最后汇聚到同一通路,即活化的caspase8、caspase9、caspase12均切割激活caspase3,最终致细胞凋亡。p53上调凋亡调控因子(p53 up-regulated modulator of apoptosis, PUMA)是细胞凋亡内源性途径(线粒体途径)中的一个重要蛋白,一些研究已经证实其在肿瘤形成和肿瘤抑制中具有重要作用。本文重点对PUMA基因及其表达产物在肿瘤的作用与调控进行综述。

1 PUMA基因及其表达产物

PUMA是2001年发现的一种促凋亡基因,最早发现于结肠癌细胞中^[11,12],该基因位于染色体19q13.3-q13.4,因其可以被p53快速诱导转录及其编码的蛋白具有强大促凋亡作用而得名。PUMA蛋白也称为BBC3(Bcl-2 binding component 3),是Bcl-2相关蛋白家族中仅含一个BH3结构域的一种蛋白,定位于线粒体外膜^[11],通过与Bcl-2/Bcl-xL和Bax/Bak相互作用发挥其促凋亡作用^[13],一是通过BH3结构域中的 α 螺旋与线粒体膜上抑制凋亡的Bcl-2/Bcl-xL表面的BH1和BH2结构域形成的大沟结合,从而解除Bcl-2/Bcl-xL对Bax/Bak的抑制作用;其二是直接和线粒体膜上的Bax/Bak作用,使Bax/Bak发生构象变化,从细胞质转位至线粒体外膜并寡聚化,进而形成PTP或改变原有的“膜通道蛋白”。以上途径最终均可导致线粒体膜通透性增加并释放细胞色素C,激活Caspase级联效应,启动细胞凋亡。Nakano等^[12]研究发现PUMA有4种不

同的转录本: PUMA- α 、PUMA- β 、PUMA- γ 、PUMA- δ 。其中PUMA- β 缺少外显子2,功能与PUMA- α 类似。PUMA- γ 和PUMA- δ 因缺少BH3结构域,不具有诱导凋亡功能。同时,4种转录本在肿瘤的发生和分化过程中的作用也可能不尽相同^[14]。

2 PUMA基因及其产物的调控

2.1 PUMA的转录调控 在细胞生命过程中,每一种蛋白的表达都受到严格的转录调控和翻译后修饰。PUMA是p53诱导细胞凋亡的关键靶基因,可以通过p53依赖途径诱导表达。PUMA上游启动子序列中含p53的结合位点,受到凋亡信号刺激后,p53可以直接与其靶位点结合从而促进PUMA转录和蛋白表达。一些研究表明p53家族成员p63和p73也可以通过与PUMA启动子上的p53反应元件结合调控PUMA的转录^[15-17];但是p63和p73不同的亚型对PUMA的作用不同,TAp63和TAp73可以诱导PUMA的表达,而且这种诱导作用并不依赖于p53的存在,而DeltaNp63和DeltaNp73抑制PUMA及其他p53靶基因的激活^[16,17]。

PUMA还可以通过p53非依赖途径诱导基因表达。PUMA可以通过内质网应激、JNK、FOXO3a、E2F1等途径激活^[10,18-22]。CHOP(C/EBP homologous protein, 或称为GADD153, 基因名Ddit3)是内质网应激时诱导的一个关键转录因子^[19,23],内质网应激诱导PUMA表达主要通过CHOP途径。PUMA基因启动子序列中并不存在CHOP的结合位点,内质网应激时CHOP通过与FOXO3a相互作用或与激活蛋白-1(activator protein 1, AP-1)结合促进PUMA的转录^[24,25]。E2F1转录因子是抑癌基因pRB下游的一个靶基因,PUMA基因启动子中存在E2F1的结合位点,E2F1转录因子可以直接与这些位点结合启动PUMA基因的转录^[26]。还有研究表明c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的缺失或抑制削弱PUMA的诱导表达^[18],JNK信号通路的激活,使c-Jun磷酸化与AP-1形成复合物直接结合到PUMA基因启动子,促进PUMA的表达^[27]。

2.2 PUMA的翻译后修饰 PUMA蛋白通过翻译后的修饰改变蛋白构象,使其易于与Bcl-2家族抗凋亡蛋白结合。Fricker等^[28]研究证实PUMA通过翻译后的磷酸化调节其蛋白功能。PUMA蛋白的

10、96、106位丝氨酸均可以被磷酸化, 而影响蛋白功能的最主要的部位是第10位丝氨酸的磷酸化, 10位丝氨酸的磷酸化促进PUMA蛋白的翻折; 而IKK α / β (I κ B kinase)促进了PUMA的磷酸化, 磷酸化PUMA虽然仍保持与Bcl-2家族抗凋亡蛋白结合的特性, 但其易被蛋白酶体降解、从而抑制PUMA的促凋亡功能^[29]。

3 PUMA与肿瘤

3.1 PUMA在肿瘤发生中的作用 由于PUMA在细胞凋亡中的重要作用, 其在肿瘤发生的作用也日益受到人们的重视。但是对头颈部肿瘤、肺部肿瘤、头颈部鳞癌细胞株、原发性肝癌的PUMA编码区序列进行检测发现, 所有标本中均未见PUMA基因出现突变^[30,31], 提示PUMA基因突变与肿瘤的发生并无直接关联, 因此其功能改变可能主要是由于转录调控和翻译后修饰导致的蛋白表达异常。Hemann等^[32]应用短发夹RNAs(shRNAs)干扰PUMA表达并对PUMA在肿瘤发生过程中的作用进行评价, 结果显示shRNAs能够抑制PUMA蛋白表达, 并可作为潜在诱导剂使共表达E1A/ras的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryo fibroblast, MEFs)出现转化; 此外, PUMA丢失还可加速E μ -Myc转基因小鼠淋巴瘤的形成。上述结果提示, 在E1A/ras介导的原代培养MEFs转化实验和Myc诱导的淋巴瘤形成过程中, 抑制PUMA的作用接近p53丢失的效应, 因此Hemann认为PUMA是p53肿瘤抑制网络中的重要组分之一, 而Garrison等^[33]同样用E μ -Myc小鼠研究淋巴瘤发生机制时发现PUMA缺失加速了淋巴瘤的形成, 而且在E μ -Myc小鼠形成的淋巴瘤中约75%的淋巴瘤出现PUMA蛋白低表达, 40%的人原发性B细胞淋巴瘤PUMA表达下降到检测不到的水平, 同时还发现淋巴瘤中PUMA表达下降与PUMA基因外显子2的甲基化有关。

其他的一些研究也证实PUMA在人类其他的恶性肿瘤表达下降。张克君等^[34]发现在胰腺癌中PUMA蛋白阳性率低于正常组织, 在PUMA阴性肿瘤组织中肿瘤细胞凋亡低于PUMA阳性肿瘤。在肝细胞癌的研究中发现只有50%(10/20)肝癌组织PUMA蛋白表达高于周围肝硬化组织^[31]。在喉癌中, PUMA表达阳性率(62.5%)低于癌旁组织(87.5%)^[35]。因此推测PUMA也表达下降可能是各种恶性肿瘤发生发展的原因之一。

3.2 PUMA在肿瘤发展中的作用及对预后的影响 PUMA不仅在肿瘤发生过程中具有重要作用, 而且一些研究表明其与肿瘤的侵袭转移及预后有关。江河等^[35]发现喉鳞癌中PUMA的表达与患者的颈淋巴结转移及预后有关。而Coutinho-Camillo等^[36]在口腔鳞癌的研究中发现PUMA和另一个Bcl-2家族蛋白Bim是影响口腔鳞状上皮细胞癌预后的独立影响因素。在表皮黑色素瘤中PUMA表达明显减弱且转移灶中PUMA表达比原发灶更低, PUMA表达减弱与黑色素瘤5年生存率较低相关^[37]。在早期卵巢癌中只有43%的卵巢癌PUMA表达强阳性, 而p53阳性同时PUMA弱表达的卵巢癌患者具有更短的无病生存期^[38]。在结肠癌的相关研究中也显示了类似的结果, PUMA表达增强的结肠癌患者5年总生存率更高, 多因素分析显示PUMA是评估结肠癌预后的独立因子^[39]。这些实验和临床研究结果表明PUMA不仅在肿瘤的发生中具有重要作用, 而且对肿瘤的侵袭转移和预后具有重要影响。

3.3 PUMA与肿瘤治疗 鉴于PUMA在肿瘤的影响和其促凋亡的功能, 一些研究也探讨了PUMA对肿瘤的抑制作用及其在肿瘤治疗中价值。由于许多肿瘤中PUMA表达下降, 因此如何通过调控PUMA表达诱导肿瘤细胞凋亡成为肿瘤治疗的一个思路。已知大约超过50%的人类肿瘤中发现p53基因突变或缺失, p53基因突变或失活后失去诱导下游凋亡基因PUMA表达的功能, 从而丧失抑制肿瘤的作用^[35,40,41], 因此通过增强p53的表达或导入野生型p53基因可促进PUMA表达从而诱导肿瘤细胞凋亡、达到抑制肿瘤的作用^[42-44]。

也有研究直接向肿瘤细胞导入PUMA基因或恢复PUMA表达诱导肿瘤细胞的凋亡或增强肿瘤对放化疗的敏感性。将携带PUMA的重组脂质体载体转染头颈部鳞癌JHU-012和JHU-013细胞后发现, PUMA可显著抑制癌细胞克隆的形成^[30]; 用腺病毒介导或脂质体转染PUMA后促进Bax寡聚化和转位到线粒体及线粒体膜电位降低、细胞色素C的释放, 增加胰腺癌、肝癌、胃癌细胞的凋亡^[45-48]。恶性肿瘤化疗耐药是肿瘤治疗的难题之一, PUMA诱导的细胞凋亡机制在化疗耐药中起着关键作用^[49], 研究表明在结肠癌、胃癌、肝癌、绒癌细胞中通过转染PUMA基因可以增强5-氟尿嘧啶、多柔比星、紫杉醇等化疗药物对肿瘤细胞的抑制作用^[50,51]。这些结

■相关报道

已有一些文献综述了关于PUMA的研究现状, 但综述的重点主要是PUMA基因结构、在细胞凋亡的作用机制, 以及在肿瘤基因治疗中的评价。

■创新盘点

本文重点综述了PUMA基因转录和蛋白功能的调控机制,以及近十年来PUMA在肿瘤发生中的作用和对肿瘤发展及预后的影响。

果证明PUMA很有可能成为一个潜在的具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点。

4 结论

PUMA作为Bcl-2相关蛋白家族中的成员之一,其蛋白表达受到严格的转录调控,其功能也受到翻译后修饰的调节。在许多肿瘤中PUMA表达异常,可能是这些肿瘤发生发展的机制之一,但是不同的肿瘤处于不同的内环境中,PUMA表达在不同的肿瘤内环境中的调控机制目前并不十分清楚。随着对PUMA在肿瘤中的作用及其机制的深入研究,PUMA有望成为一个具有重要治疗价值的肿瘤治疗靶点。

5 参考文献

- Maher S, Toomey D, Condrón C, Bouchier-Hayes D. Activation-induced cell death: the controversial role of Fas and Fas ligand in immune privilege and tumour counterattack. *Immunol Cell Biol* 2002; 80: 131-137 [PMID: 11940113 DOI: 10.1046/j.1440-1711.2002.01068.x]
- Hug H. Fas-mediated apoptosis in tumor formation and defense. *Biol Chem* 1997; 378: 1405-1412 [PMID: 9461339]
- Bernstorff WV, Glickman JN, Odze RD, Farraye FA, Joo HG, Goedegebuure PS, Eberlein TJ. Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand expression in normal pancreas and pancreatic tumors. Implications for immune privilege and immune escape. *Cancer* 2002; 94: 2552-2560 [PMID: 12173320 DOI: 10.1002/cncr.10549]
- Yin F, Liu X, Li D, Wang Q, Zhang W, Li L. Tumor suppressor genes associated with drug resistance in ovarian cancer (Review). *Oncol Rep* 2013; 30: 3-10 [PMID: 23660957 DOI: 10.3892/or.2013.2446]
- Zahreddine H, Borden KL. Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Front Pharmacol* 2013; 4: 28 [PMID: 23504227 DOI: 10.3389/fphar.2013.00028]
- Lee EW, Seo J, Jeong M, Lee S, Song J. The roles of FADD in extrinsic apoptosis and necroptosis. *BMB Rep* 2012; 45: 496-508 [PMID: 23010170 DOI: 10.5483/BMBRep.2012.45.9.186]
- Guzzo MF, Carvalho LR, Bronstein MD. Apoptosis: its role in pituitary development and neoplastic pituitary tissue. *Pituitary* 2013 Mar 20. [Epub ahead of print] [PMID: 23512699 DOI: 10.1007/s11102-013-0481-5]
- Zou XJ, Yang L, Yao SL. Endoplasmic reticulum stress and C/EBP homologous protein-induced Bax translocation are involved in angiotensin II-induced apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Exp Biol Med* (Maywood) 2012; 237: 1341-1349 [PMID: 23239445 DOI: 10.1258/ebm.2012.012041]
- Liu D, Zhang M, Yin H. Signaling pathways involved in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis. *Int J Neurosci* 2013; 123: 155-162 [PMID: 23134425 DOI: 10.3109/00207454.2012.746974]
- Nickson P, Toth A, Erhardt P. PUMA is critical for neonatal cardiomyocyte apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 48-56 [PMID: 17107669 DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.001]
- Yu J, Zhang L, Hwang PM, Kinzler KW, Vogelstein B. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cells. *Mol Cell* 2001; 7: 673-682 [PMID: 11463391 DOI: S1097-2765(01)00213-1]
- Nakano K, Vousden KH. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol Cell* 2001; 7: 683-694 [PMID: 11463392 DOI: S1097-2765(01)00214-3]
- Yu J, Wang Z, Kinzler KW, Vogelstein B, Zhang L. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 1931-1936 [PMID: 12574499 DOI: 10.1073/pnas.2627984100]
- 陈鑫, 张尤历, 乌慧玲, 孔梅, 邵长江, 宋永站. PUMA基因在胃癌组织及细胞中的表达. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1227-1231
- Ming L, Sakaida T, Yue W, Jha A, Zhang L, Yu J. Sp1 and p73 activate PUMA following serum starvation. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1878-1884 [PMID: 18579560 DOI: 10.1093/carcin/bgn150]
- Fricker M, Papadia S, Hardingham GE, Tolkovsky AM. Implication of TAp73 in the p53-independent pathway of Puma induction and Puma-dependent apoptosis in primary cortical neurons. *J Neurochem* 2010; 114: 772-783 [PMID: 20477944 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06804.x]
- Mundt HM, Stremmel W, Melino G, Krammer PH, Schilling T, Müller M. Dominant negative (DeltaN) p63alpha induces drug resistance in hepatocellular carcinoma by interference with apoptosis signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396: 335-341 [PMID: 20403333 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.04.093]
- Qiu W, Wang X, Leibowitz B, Yang W, Zhang L, Yu J. PUMA-mediated apoptosis drives chemical hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology* 2011; 54: 1249-1258 [PMID: 21725994 DOI: 10.1002/hep.24516]
- Ray RM, Bhattacharya S, Johnson LR. Mdm2 inhibition induces apoptosis in p53 deficient human colon cancer cells by activating p73- and E2F1-mediated expression of PUMA and Siva-1. *Apoptosis* 2011; 16: 35-44 [PMID: 20812030 DOI: 10.1007/s10495-010-0538-0]
- Bean GR, Ganesan YT, Dong Y, Takeda S, Liu H, Chan PM, Huang Y, Chodosh LA, Zambetti GP, Hsieh JJ, Cheng EH. PUMA and BIM are required for oncogene inactivation-induced apoptosis. *Sci Signal* 2013; 6: ra20 [PMID: 23532334 DOI: 10.1126/scisignal.2003483]
- Reimertz C, Kögel D, Rami A, Chittenden T, Prehn JH. Gene expression during ER stress-induced apoptosis in neurons: induction of the BH3-only protein Bbc3/PUMA and activation of the mitochondrial apoptosis pathway. *J Cell Biol* 2003; 162: 587-597 [PMID: 12913114 DOI: 10.1083/jcb.200305149]
- Amente S, Zhang J, Lavadera ML, Lania L, Avvedimento EV, Majello B. Myc and PI3K/AKT signaling cooperatively repress FOXO3a-dependent PUMA and GADD45a gene expression. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 9498-9507 [PMID: 21835778 DOI: 10.1093/nar/gkr638]
- He D, Li J, Zhao J, Fei J, Zhang X. C/EBP homologous protein induces mesangial cell apoptosis induced

- under hyperglycemia. *Mol Med Rep* 2013; 7: 445-448 [PMID: 23241730 DOI: 10.3892/mmr.2012.1234]
- 24 Ghosh AP, Klocke BJ, Ballestas ME, Roth KA. CHOP potentially co-operates with FOXO3a in neuronal cells to regulate PUMA and BIM expression in response to ER stress. *PLoS One* 2012; 7: e39586 [PMID: 22761832 DOI: 10.1371/journal.pone.0039586]
 - 25 Cazanave SC, Elmi NA, Akazawa Y, Bronk SF, Mott JL, Gores GJ. CHOP and AP-1 cooperatively mediate PUMA expression during lipoapoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G236-G243 [PMID: 20430872 DOI: 10.1152/ajpgi.00091.2010]
 - 26 Hershko T, Ginsberg D. Up-regulation of Bcl-2 homology 3 (BH3)-only proteins by E2F1 mediates apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 8627-8634 [PMID: 14684737 DOI: 10.1074/jbc.M312866200]
 - 27 Cazanave SC, Mott JL, Elmi NA, Bronk SF, Werneburg NW, Akazawa Y, Kahraman A, Garrison SP, Zambetti GP, Charlton MR, Gores GJ. JNK1-dependent PUMA expression contributes to hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem* 2009; 284: 26591-26602 [PMID: 19638343 DOI: 10.1074/jbc.M109.022491]
 - 28 Fricker M, O'Prey J, Tolkovsky AM, Ryan KM. Phosphorylation of Puma modulates its apoptotic function by regulating protein stability. *Cell Death Dis* 2010; 1: e59 [PMID: 21364664 DOI: 10.1038/cddis.2010.38]
 - 29 Sandow JJ, Jabbour AM, Condina MR, Daunt CP, Stomski FC, Green BD, Riffkin CD, Hoffmann P, Guthridge MA, Silke J, Lopez AF, Ekert PG. Cytokine receptor signaling activates an IKK-dependent phosphorylation of PUMA to prevent cell death. *Cell Death Differ* 2012; 19: 633-641 [PMID: 21997190 DOI: 10.1038/cdd.2011.131]
 - 30 Hoque MO, Begum S, Sommer M, Lee T, Trink B, Ratovitski E, Sidransky D. PUMA in head and neck cancer. *Cancer Lett* 2003; 199: 75-81 [PMID: 12963126 DOI: 10.1016/S0304-3835(03)00344-6]
 - 31 Ahn CH, Jeong EG, Kim SS, Lee JW, Lee SH, Kim SH, Kim MS, Yoo NJ, Lee SH. Expressional and mutational analysis of pro-apoptotic Bcl-2 member PUMA in hepatocellular carcinomas. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1395-1399 [PMID: 17934815 DOI: 10.1007/s10620-007-9987-x]
 - 32 Hemann MT, Zilfou JT, Zhao Z, Burgess DJ, Hannon GJ, Lowe SW. Suppression of tumorigenesis by the p53 target PUMA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9333-9338 [PMID: 15192153 DOI: 10.1073/pnas.0403286101]
 - 33 Garrison SP, Jeffers JR, Yang C, Nilsson JA, Hall MA, Reh G, Yue W, Yu J, Zhang L, Onciu M, Sample JT, Cleveland JL, Zambetti GP. Selection against PUMA gene expression in Myc-driven B-cell lymphomagenesis. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5391-5402 [PMID: 18573879 DOI: 10.1128/MCB.00907-07]
 - 34 张克君, 李德春, 朱东明. puma蛋白在胰腺癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 488-492
 - 35 江河, 江孝清, 周绪红, 吴曙辉. 喉鳞状细胞癌中 PUMA、P53 基因的表达及其临床意义. *武汉大学学报(医学版)* 2006; 27: 57-59
 - 36 Coutinho-Camillo CM, Lourenço SV, Nishimoto IN, Kowalski LP, Soares FA. Expression of Bcl-2 family proteins and association with clinicopathological characteristics of oral squamous cell carcinoma. *Histopathology* 2010; 57: 304-316 [PMID: 20716171 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03621.x]
 - 37 Karst AM, Dai DL, Martinka M, Li G. PUMA expression is significantly reduced in human cutaneous melanomas. *Oncogene* 2005; 24: 1111-1116 [PMID: 15690057 DOI: 10.1038/sj.onc.1208374]
 - 38 Skírnisdóttir I, Seidal T. The apoptosis regulators p53, bax and PUMA: Relationship and impact on outcome in early stage (FIGO I-II) ovarian carcinoma after post-surgical taxane-based treatment. *Oncol Rep* 2012; 27: 741-747 [PMID: 22159712 DOI: 10.3892/or.2011.1578]
 - 39 Sinicrope FA, Rego RL, Okumura K, Foster NR, O'Connell MJ, Sargent DJ, Windschitl HE. Prognostic impact of bim, puma, and noxa expression in human colon carcinomas. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5810-5818 [PMID: 18794091 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5202]
 - 40 Azmi AS, Philip PA, Aboukameel A, Wang Z, Banerjee S, Zafar SF, Goustin AS, Almhanna K, Yang D, Sarkar FH, Mohammad RM. Reactivation of p53 by novel MDM2 inhibitors: implications for pancreatic cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10: 319-331 [PMID: 20370686 DOI: 10.2174/156800910791190229]
 - 41 胡煜, 张阳德, 朱勤, 彭健, 潘一峰, 王吉伟. PUMA在结肠癌细胞中的表达及诱导细胞凋亡中的作用. *现代生物医学进展* 2007; 7: 1058-1060
 - 42 Wang H, Ma X, Ren S, Buolamwini JK, Yan C. A small-molecule inhibitor of MDMX activates p53 and induces apoptosis. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 69-79 [PMID: 21075910 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0581]
 - 43 Thakur VS, Ruhul Amin AR, Paul RK, Gupta K, Hastak K, Agarwal MK, Jackson MW, Wald DN, Mukhtar H, Agarwal ML. p53-Dependent p21-mediated growth arrest pre-empts and protects HCT116 cells from PUMA-mediated apoptosis induced by EGCG. *Cancer Lett* 2010; 296: 225-232 [PMID: 20444544 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.04.012]
 - 44 Gu J, Zhang L, Swisher SG, Liu J, Roth JA, Fang B. Induction of p53-regulated genes in lung cancer cells: implications of the mechanism for adenoviral p53-mediated apoptosis. *Oncogene* 2004; 23: 1300-1307 [PMID: 14676844 DOI: 10.1038/sj.onc.1207239]
 - 45 莫小恒, 李军, 张克君, 李德春. PUMA基因对胰腺癌细胞BxPC-3的促凋亡作用及其可能机制. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2009; 16: 353-357
 - 46 郝强, 陈松, 杨生生, 陈欢, 焦炳华, 蔡在龙. 促凋亡蛋白PUMA对小鼠肝细胞凋亡的影响及其分子机制. *第四军医大学学报* 2009; 30: 2726-2730
 - 47 Wang H, Pei W, Luan Q, Ma F, Zhou S, Zhao Z, Meng X, Zhang X, Liang X, Chen Y, Zhan Q, Lin C, Qian H, Zhao P. A feasibility study on gene therapy of pancreatic carcinoma with Ad-PUMA. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 712-719 [PMID: 22617775 DOI: 10.4161/cbt.20552]
 - 48 张宇雯, 刘兴汉, 马洪星, 曲天舒, 李冀红, 栗亚. Puma基因转染对胃癌SGC-7901细胞的促凋亡作用及机制. *中国肿瘤* 2008; 17: 137-141
 - 49 Zhao Z, Wang J, Tang J, Liu X, Zhong Q, Wang F, Hu W, Yuan Z, Nie C, Wei Y. JNK- and Akt-mediated Puma expression in the apoptosis of cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Biochem J* 2012; 444: 291-301 [PMID: 22394200 DOI: 10.1042/BJ20111855]

应用要点

对PUMA在肿瘤发生发展中的作用和机制的阐述, 及其在肿瘤治疗中的评价, 有助于人们对肿瘤发生发展机制的理解和对肿瘤治疗靶点的探索。

■同行评价

本文系统论述PUMA基因及其与肿瘤的关系,具有一定的学术价值。

- 50 Dvory-Sobol H, Sagiv E, Kazanov D, Ben-Ze'ev A, Arber N. Targeting the active beta-catenin pathway to treat cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2861-2871 [PMID: 17121933 DOI: 10.1158/1535-7163.

- MCT-06-0122]
51 陈燕, 向阳, 钱海利, 马妍, 詹启敏, 林晨. PUMA基因对耐药绒癌化疗敏感性的影响. *生殖医学杂志* 2008; 17: 474-479

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

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

联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响

陈选民, 叶玲, 冷爱民, 刘霆

陈选民, 南华大学附属第一医院消化科 湖南省衡阳市 421001

叶玲, 中南大学湘雅二医院老年病科 湖南省长沙市 410008
冷爱民, 刘霆, 中南大学湘雅医院消化科 湖南省长沙市 410008

陈选民, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 30800518

教育部博士点新教师基金资助项目, No. 200805331090

作者贡献分布: 此课题由刘霆与陈选民设计; 冷爱民负责联合基因载体构建; 实验操作由陈选民与叶玲完成; 论文写作由刘霆与陈选民完成.

通讯作者: 刘霆, 主治医师, 410008, 湖南省长沙市湘雅路87号, 中南大学湘雅医院消化科. liuting818@126.com

收稿日期: 2013-04-14 修回日期: 2013-05-26

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells

Xuan-Min Chen, Ling Ye, Ai-Min Leng, Ting Liu

Xuan-Min Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nan-Hua University, Hengyang 421001, Hunan province, China

Ling Ye, Department of Geriatrics, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan province, China

Ai-Min Leng, Ting Liu, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30800518; and the Doctoral Program Foundation of Ministry of Education of China, No. 200805331090

Correspondence to: Ting Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital of Central South University, 87 Xiangya Road, Changsha 410008, Hunan Province, China. liuting818@126.com

Received: 2013-04-14 Revised: 2013-05-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe the effect of combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK, which is mediated by calcium phosphate nanoparticles, on the proliferation of human gastric cancer cells.

METHODS: Expression plasmid vectors pcD-

NA3.1(-) NULL, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, or pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK were transfected into human gastric cancer cell line SGC7901. The mRNA and protein expression of yCDglyTK and VEGF was detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The proliferation of transfected cells was analyzed by MTT assay. Apoptosis of SGC7901 cells was analyzed by flow cytometry.

RESULTS: After transfection with plasmid pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK, yCDglyTK mRNA and protein was detectable, and expression of VEGF was decreased by 30.3%. Compared to cells transfected with plasmid pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, cells treated with the combined gene therapy system showed more significant proliferation inhibition ($P < 0.05$) and apoptosis (apoptosis rate: $67.9\% \pm 4.78\%$).

CONCLUSION: The combined gene therapy system pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK has stronger killing effect on gastric cancer cells than RNA interference or suicide gene alone.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Combined gene therapy; Suicide gene; RNA interference; Vascular endothelial growth factor; Gastric carcinoma

Chen XM, Ye L, Leng AM, Liu T. Combined gene therapy system pcDNA 3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK inhibits proliferation of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2063-2069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2063.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2063>

摘要

目的: 观察由磷酸钙纳米颗粒介导的联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响.

方法: 以磷酸钙纳米颗粒为载体, 介导

■背景资料

肿瘤的发生是复杂的多因素、多步骤、涉及多基因事件发生的过程, 针对单一环节的转基因治疗常常不能达到满意的治疗效果, 大多数学者研究认为, 联合基因治疗都存在协同效应, 能够加强对肿瘤的杀伤作用.

■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室; 刘亮明, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

■ 研发前沿

本项目构建以血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因为靶向的RNA干扰质粒与肿瘤特异性启动子调控的融合自杀基因yCDglyTK相结合的治疗体系,并以磷酸钙纳米为载体,将该基因治疗体系靶向导入胃癌细胞中,达到增强基因治疗靶向性及安全性的目的。

pcDNA3.1(-)Null, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK转染胃癌细胞SGC7901, RT-PCR检测细胞中yCDglyTK及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA的表达情况。Western blot分析yCDglyTK及VEGF蛋白的改变。MTT法检测融合基因对转染细胞的杀伤作用。流式细胞术检测转染细胞的凋亡情况。

结果: SGC7901细胞转染pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK质粒后有yCDglyTK mRNA及相关蛋白表达, VEGF表达受抑制达30.3%。相对于转染pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK质粒组,联合基因体系对胃癌细胞的抑制作用更强($P < 0.05$)。pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组细胞凋亡率达到67.9% \pm 4.78%。

结论: 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK较单独的RNA干扰或自杀基因可更有效的杀伤胃癌细胞。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 联合基因; 自杀基因; RNA干扰; 血管内皮生长因子; 胃癌

核心提示: 磷酸钙纳米颗粒介导的pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK联合基因治疗比单一的基因治疗更有优势,将该基因治疗体系靶向导入胃癌细胞中,能显著降低胃癌关键促癌基因的表达,促进其凋亡。

陈选民, 叶玲, 冷爱民, 刘霆. 联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2063-2069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2063.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2063>

0 引言

胃癌是人类常见的恶性肿瘤之一,在全球范围内,居恶性肿瘤的第4位,病死率居恶性肿瘤的第2位^[1]。目前手术治疗、化疗等治疗方式效果有限,胃癌的预后很差,胃癌的5年生存率不足20%。从恶性转化和肿瘤发展的分子遗传学来看,胃癌是一种获得性的多阶段的基因病,他的生长、侵袭、凋亡都和基因相关。60%的临床实验证明,基因治疗的最普遍的适应症是肿瘤^[2]。因此,胃癌的基因治疗是当前的研究热点。

在胃癌的基因治疗策略中,自杀基因治疗颇具临床应用潜力。RNA干扰(RNA interference, RNAi)是近几年来发现和发展起来的一门新兴的在转录水平上的基因阻断技术。在联合基因治疗肿瘤研究中,石华等^[3]的研究显示,HPV-16 E6 siRNA与*hIL-24*基因分别转染宫颈癌Ca Ski细胞后,均能抑制CaSki细胞中HPV-16 E6癌基因的表达,使抑癌蛋白p53恢复活性,诱导宫颈癌CaSki细胞凋亡;两者联合则具有协同效应,能显著提高肿瘤细胞凋亡率。杨晓红等^[4]的研究表明:RNA干扰技术可成为有效抑制非小细胞肺癌的治疗新方法,联合抑癌基因*p53*可增强其对肺癌细胞的抑制作用。为此,本研究利用磷酸钙纳米颗粒为载体,研究联合基因治疗体系pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK对胃癌细胞增殖的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株SGC7901由中南大学湘雅医院医学实验研究中心保存,培养于含10%小牛血清的RPMI 1640培养液中。真核表达质粒pcDNA3.1(-)Null, pGenesil-1-hVEGF4-shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK均为本科室前期实验所构建^[5]。磷酸钙纳米颗粒为本科室前期实验所合成。TRIzol购自Promega公司,逆转录试剂盒购自TOYOBO,鼠抗 β -actin购自Sigma公司,兔抗yCDglyTK、鼠抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及鼠二抗购自Sants Cruz,兔二抗购自Amersham。5-氟胞嘧啶(5-fluorocytosine, 5-FC),二甲基亚砜(DMSO)等购自Sigma公司;改良型RPMI 1640、小牛血清均购自Hyclone。

1.2 方法

1.2.1 转染: 转染共分5组: (1)未转染的SGC7901组; (2)pcDNA3.1(-)Null组; (3)pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组; (4)pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组; (5)pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组。按照磷酸钙纳米转染法进行转染^[4]。6孔板中,每孔接种细胞 2×10^5 个,待细胞生长至融合度为70%-80%时,按照质粒DNA: 纳米颗粒 = 1 μ g : 15 μ g混合,用0.05 mol/L CaCl_2 修饰,混合20 min后,加入孔板中转染,转染6 h后更换为含10%小牛血清的完全培养基,转染48 h后收集细胞用于RT-PCR,转染72 h后收集细胞用于Western blot检测。

1.2.2 RT-PCR检测 转染后5组SGC7901细胞中

表 1 5组SGC7901细胞的VEGF mRNA水平及蛋白水平与细胞凋亡率 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组	VEGF/ β -actin mRNA	VEGF/ β -actin蛋白	细胞凋亡率(%)
SGC7901	0.41 \pm 0.04 ^a	0.66 \pm 0.05 ^a	3.24 \pm 0.40
pcDNA3.1(-)Null	0.41 \pm 0.03 ^a	0.60 \pm 0.03 ^a	4.56 \pm 0.71
pGenesil-shVEGF	0.17 \pm 0.03	0.36 \pm 0.04	21.6 \pm 1.11
pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK	0.37 \pm 0.05 ^a	0.61 \pm 0.03 ^a	56.2 \pm 2.59
pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK	0.15 \pm 0.03	0.41 \pm 0.04	67.9 \pm 4.78 ^a

^a $P < 0.05$ vs pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK. VEGF: 血管内皮生长因子.

*yCDglyTK*基因及*VEGF* mRNA的水平变化: 两步法进行RT-PCR. 第一步逆转录: 提取总RNA, 紫外分光光度仪测浓度, 取1 μ g作为模板, 反应体系为20 μ L: 5 \times RT-buffer 4 μ L, dNTP(各10 mmol/L) 2 μ L, RNase Inhibitor 1 μ L, Reretra Ace 1 μ L, 用ddH₂O补足体积至20 μ L. 反应参数为: 42 $^{\circ}$ C 20 min, 85 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C 5 min. 第二步PCR扩增: 取cDNA 2 μ L作为PCR反应模板, 反应体系为25 μ L: Master Mix 12.5 μ L, 上、下游引物(10 pmol/ μ L)各1 μ L, ddH₂O补足体积至25 μ L; 所用引物如下: *yCDglyTK*基因引物: p1 5'-GGGAGATTAGAGGGAAAGTGT-3'; p2 5'-ACGGCGTCGGTCACGGCATAA-3', PCR产物长度707 bp. VEGF引物: p1 5'-TCTTCAAGC-CATCCTGTGTG-3'; p2 5'-ATCCGCATAATCT-GCATGGT-3', 产物长度112 bp. 内参 β -actin引物: p1 5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3'; p2 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3', 产物长度285 bp. 反应参数为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 98 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C(其中*VEGF*基因退火温度为53 $^{\circ}$ C)30 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s, 32个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min. PCR产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳, 使用BandScan图像分析软件计算两个基因条带与内参条带光密度比值, 以其表示相应基因含量的相对强度.

1.2.3 Western blot分析转染后5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*及*VEGF*基因表达水平的变化: 分别收集转染后72 h的SGC7901细胞裂解液, BCA法测定蛋白浓度, 15%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 电转移至PVDF膜上, 室温封闭1 h, 4 $^{\circ}$ C孵育一抗过夜, 二抗室温孵育1 h, 显色. 实验中以 β -actin为内参, 用BandScan图像分析软件分析结果.

1.2.4 MTT法测细胞相对存活率: (1)取对数生长期SGC7901细胞, 胰酶消化, 以每孔 8×10^3 个细胞接种于96孔培养板, 设4个复孔; (2)待细胞

融合度达到70%-80%时, 以4种质粒转染之, 以不转染的SGC7901为对照, 转染6 h后更换为完全培养基; (3)24 h后更换为含5-FC终浓度为200 μ g/mL的完全培养基; (4)分别于加药后第1、2、3、4、5和6天行MTT法检测细胞活力(每孔加入5 mg/mL的MTT 20 μ L, 继续培养4 h后移去上清, 加DMSO 200 μ L/孔, 避光振荡10 min后即在酶联免疫检测仪上测定吸光值). 以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制细胞生长曲线.

1.2.5 流式细胞仪分析转染后5组SGC7901细胞凋亡情况: 按 2×10^5 /孔将细胞种植于6孔板, 待细胞融合度达90%时, 用4种质粒转染6 h, 经200 μ g/mL的5-FC作用48 h后, 收集上清及细胞, 离心, PBS漂洗后, 75 mL/L预冷乙醇固定24 h以上, 采用流式细胞仪检测细胞凋亡率.

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行处理, 采用单因素方差分析, 对样本进行方差齐性检验, 方差齐时组间比较采用方差分析及LSD-*t*检验, 方差不齐时组间比较采用Kruskal-Wallis H检验及Nemenyi检验, $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*基因及*VEGF* mRNA水平变化 RT-PCR产物经琼脂糖凝胶电泳, 发现转染pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK, pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组有*yCDglyTK*基因表达, 未转染SGC7901组, 转染pcDNA3.1(-)Null组无表达; 转染pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组及pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组VEGF mRNA水平下降, 与未转染SGC7901组, 转染pcDNA3.1(-)Null组相比有统计学差异($P < 0.05$)(表1, 图1).

2.2 5组SGC7901细胞中*yCDglyTK*及*VEGF*基因表达水平的变化 pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK

■ 相关报道

研究证明, 以PEG介导VEGF siRNA治疗体系, 能明显抑制前列腺肿瘤细胞中VEGF的表达, 显示很好的抗肿瘤活性. Schrijver等应用RNAi技术, 高度特异地沉默前列腺腺癌细胞中FASE的表达, FASE的沉默抑制了前列腺腺癌细胞的生长, 最终导致其凋亡.

■创新盘点

以生物纳米材料磷酸钙纳米颗粒为载体与带有特异性启动子的pcDNA3.1(-)CVyCDglyTK/siRNA-VEGF基因治疗系统结合导入胃癌的治疗,克服病毒载体的安全性差及肿瘤治疗靶向性差的缺点,选择性杀伤肿瘤细胞,达到胃癌靶向基因治疗的目的。

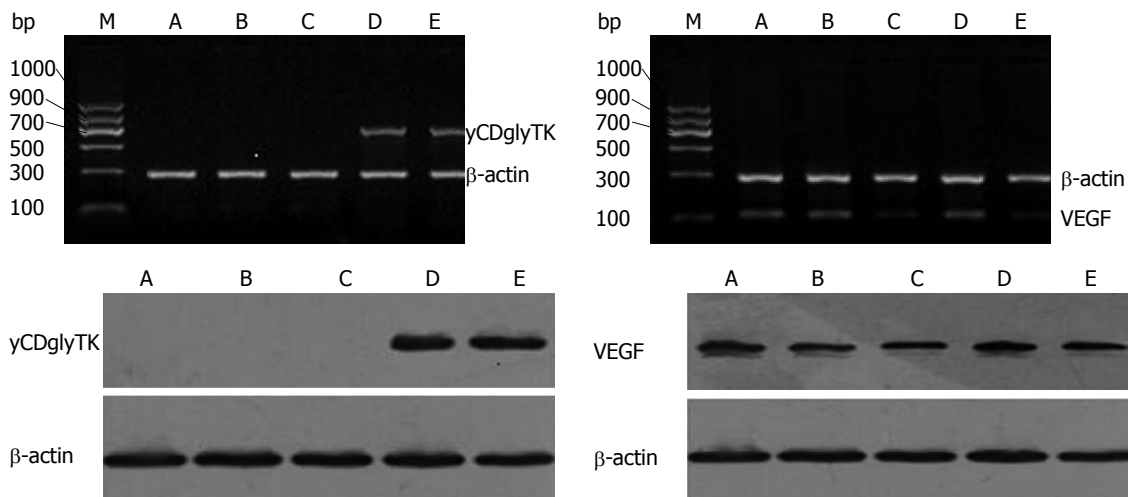


图1 *yCDglyTK*基因及*VEGF*基因在5组细胞中的表达。A: SGC7901; B: pcDNA3.1(-)Null; C: pGenesil-1-hVEGF4-shRNA; D: pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK; E: pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK。VEGF: 血管内皮生长因子。

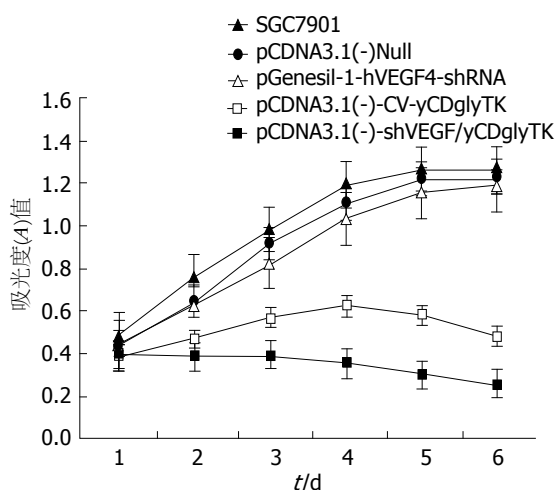


图2 5-FC对5组细胞增殖的抑制作用。VEGF: 血管内皮生长因子; 5-FC: 5-氟胞嘧啶。

组和pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组表达yCDglyTK蛋白,未转染的SGC7901组,转染pcDNA3.1(-)Null组中无表达,pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组VEGF蛋白及pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组VEGF蛋白的水平下降,与其余3组相比有统计学差异($P<0.05$)(表1,图1)。

2.3 生长曲线(MTT法) 如图2所示,5-FC对pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组、pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组均有抑制作用,但是对于后者的作用更强,有统计学差异($P<0.05$)。其余3组仍随时间推移而生长,有相似的生长曲线。

2.4 5组SGC7901细胞凋亡情况 pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK组细胞凋亡率达到72.4%,高于其余4组,有显著统计学差异($P<0.05$)(表1,图3)。

3 讨论

胃癌的基因治疗中,自杀基因是研究较多的一类抗肿瘤基因,如自杀基因CD/5-FC、HSV-TK/GCV系统具有强大的杀伤肿瘤细胞,抑制肿瘤生长的作用^[6-9]。融合基因yCDglyTK被转染进入细胞,通过靶向表达启动子CEA的作用后,能够对细胞无毒性作用的前药5-FC转化为5-FU,通过干扰细胞DNA的形成及旁观者效应等机制,抑制肿瘤细胞增殖。自Tsomoto等^[10]提出肿瘤的生长具有血管形成依赖以来,对实体瘤的血管形成及其相关微循环的研究及抗肿瘤血管生成已成为当今肿瘤研究的热点之一,VEGF是已经被证实具有促进血管生成的作用,研究表明,VEGF在包括胃癌在内的多种实体肿瘤中存在过度表达,并且其表达水平与肿瘤的浸润性,微血管的密度,肿瘤的转移与复发等密切相关^[11]。RNA干扰,是近几年来发现和发展起来的一门新兴的在转录水平上的基因阻断技术,是一种双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)分子在mRNA水平上关闭相应序列基因的表达或使其沉默的过程^[12,13],他能与一种具有dsRNA特异性的RNA酶III内切核酸酶Dicer结合为酶-dsRNA复合物,随即被切割成21-23 nt的RNA片段,即小干扰RNA(small interference RNA, siRNA)。研究表明,VEGF的RNA干扰技术是一种有效的抑制肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成的策略^[14]。为了探索更强大的胃癌治疗体系,我们在pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK骨架基础上,将来自pGenesil-1-hVEGF4-shRNA的U6-shRNA

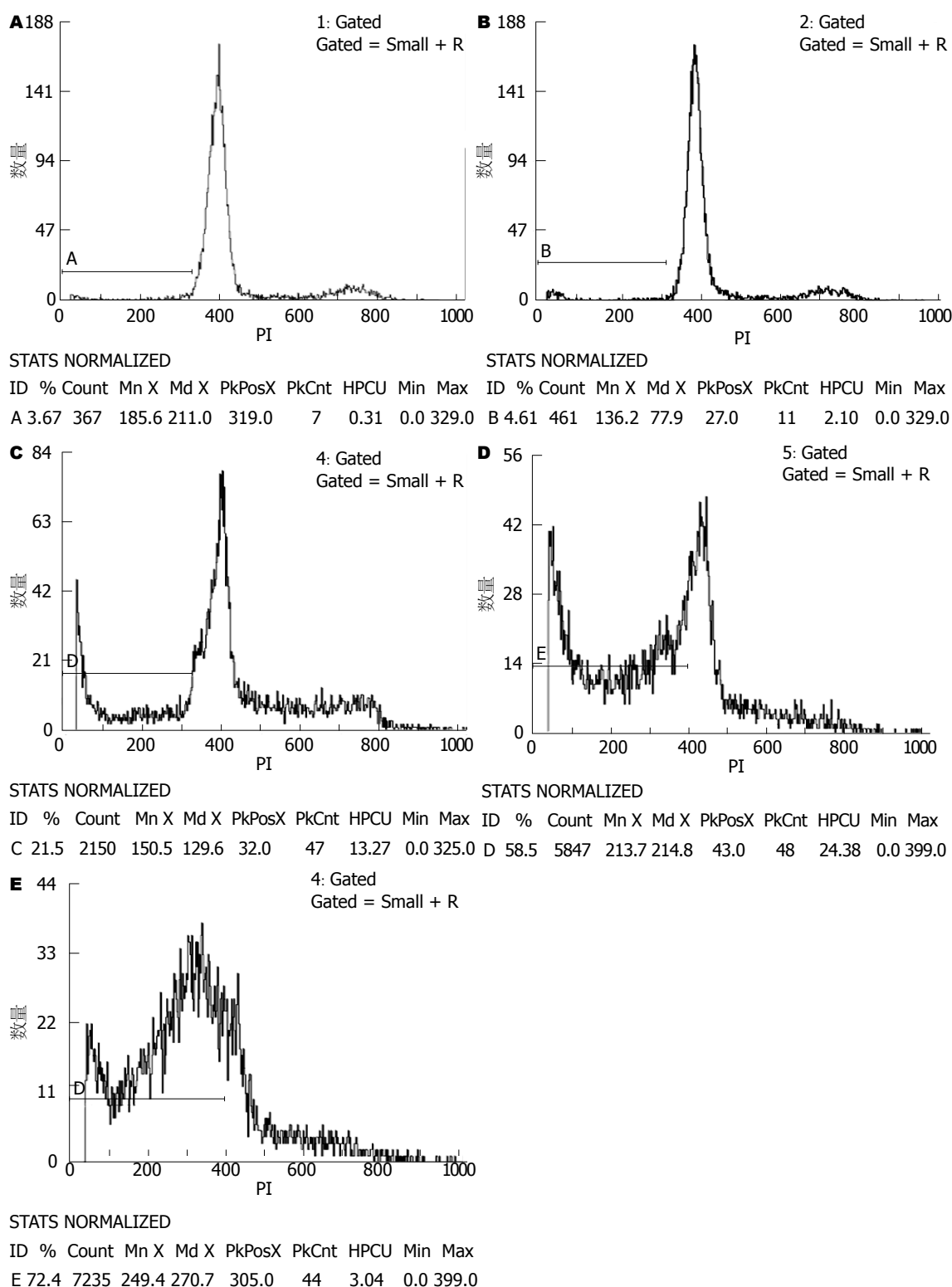


图 3 5组SGC7901细胞凋亡情况。A: SGC7901; B: pcDNA3.1(-)Null; C: pGenesil-1-hVEGF4-shRNA; D: pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK; E: pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK。

表达框亚克隆至该骨架载体上, 通过两种机制的联合基因治疗体系, 达到我们的实验目的。实验证实真核表达质粒pcDNA3.1(-)-shVEGF/yCDglyTK能够在磷酸钙纳米颗粒的介导下, 成

功转染胃癌细胞SGC7901, 使其表达融合自杀基因yCDglyTK, 抑制其VEGF的表达30.3%, 在5-FC作用下, SGC7901细胞在48 h内凋亡率达到72.4%, 相比单纯转染质粒pGenesil-1-hVEGF4-

■同行评价

本文的技术和结果有一定的创新性,具有一定指导意义。

shRNA, pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK组,联合质粒显示了更强的抑制作用,证实该联合基因治疗系统存在协同作用,能够增强疗效。这与国内其他联合基因治疗的研究结果一致^[3,4]。

载体是基因治疗的关键。目前载体可分为病毒载体和非病毒载体。病毒载体主要包括腺病毒、逆转录病毒、腺相关病毒等,但病毒载体在安全性方面存在潜在的危险,如免疫原性比较强,注射到机体后很快会被机体的免疫系统排斥;非病毒载体目前常用的有脂质体及多聚阳离子聚合物。但脂质体和阳离子聚合物介导基因转移缺乏组织的特异性和靶向性,易被网状内皮系统吞噬,基因表达时间短等缺点。本研究采用的磷酸钙纳米颗粒,成功介导联合基因转染,利用了该类载体毒性低,转染效率高,保护目标DNA等特点^[6],使我们的联合基因治疗体系更有优势。

为了增强基因治疗的靶向性,我们构建联合基因治疗体系时,采用了具有靶向表达的pcDNA3.1(-)-CV-yCDglyTK骨架,其由CEA启动子驱动,能够使5-FC仅在CEA表达阳性的细胞中转化为5-FU^[15,16],对于高表达CEA的胃癌细胞来说,这种杀伤作用具有专一性。由于U6启动子缺乏靶向性,使我们的联合基因不能专一抑制胃癌细胞VEGF的表达,这是我们的联合基因的局限性,也是下一步实验要重点攻克的问题。虽然VEGF可以通过VEGF/VEGFR2自分泌环对肿瘤细胞的存活产生一定影响^[17],而我们的实验也证实转染pGenesil-1-hVEGF4-shRNA组胃癌细胞生长曲线不同于转染pcDNA3.1(-)Null组,流式细胞仪也证实该组有21.5%的凋亡率。但其主要作用还是在肿瘤组织刺激肿瘤血管的生成,为肿瘤组织生长提供必要的血液供应,从而促进肿瘤的进展。因为在细胞实验中不存在对血管的抑制,因此VEGF的RNA干扰效应有待动物实验进一步验证。

总之,磷酸钙纳米颗粒介导的联合基因治疗比单一的基因治疗更有优势,他能通过不同的作用机制抑制肿瘤细胞的增殖,促进其凋亡,将为胃癌的基因治疗提供新的思路。

4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Zhu X, Su D, Xuan S, Ma G, Dai Z, Liu T, Tang D,

Mao W, Dong C. Gene therapy of gastric cancer using LIGHT-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Gastric Cancer* 2013; 16: 155-166 [PMID: 22850801 DOI: 10.1007/s10120-012-0166-1]

- 3 石华, 杨俊霞, 袁成福. HPV-16 E6 siRNA与hIL-24基因联合诱导人宫颈癌CaSki细胞的凋亡. *肿瘤* 2007; 5: 346-351
- 4 杨晓红, 万福生, 潘泽政. RNA干扰单独及联合p53基因对肺癌细胞增殖的抑制作用. *江西医学院学报* 2006; 46: 1-4
- 5 叶玲, 张桂英, 刘霆, 陈选民, 易红, 肖志强, 冷爱民, 彭杰. 表达血管内皮生长因子-siRNA及双自杀基因yCDglyTK的联合基因载体构建及其应用研究. *生物化学与生物物理进展* 2010; 37: 503-509
- 6 Liu T, Tang A, Zhang G, Chen Y, Zhang J, Peng S, Cai Z. Calcium phosphate nanoparticles as a novel nonviral vector for efficient transfection of DNA in cancer gene therapy. *Cancer Biother Radiopharm* 2005; 20: 141-149 [PMID: 15869447 DOI: 10.1089/cbr.2005.20.141]
- 7 Li XH, Zhou P, Wang LH, Tian SM, Qian Y, Chen LR, Zhang P. The targeted gene (KDRP-CD/TK) therapy of breast cancer mediated by SonoVue and ultrasound irradiation in vitro. *Ultrasonics* 2012; 52: 186-191 [PMID: 21906771 DOI: 10.1016/j.ultras.2011.08.002]
- 8 Duarte S, Carle G, Faneca H, de Lima MC, Pierre-fite-Carle V. Suicide gene therapy in cancer: where do we stand now? *Cancer Lett* 2012; 324: 160-170 [PMID: 22634584 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.05.023]
- 9 Boucher PD, Im MM, Freytag SO, Shewach DS. A novel mechanism of synergistic cytotoxicity with 5-fluorocytosine and ganciclovir in double suicide gene therapy. *Cancer Res* 2006; 66: 3230-3237 [PMID: 16540675 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3033]
- 10 Isomoto H, Ohtsuru A, Braiden V, Iwamatsu M, Miki F, Kawashita Y, Mizuta Y, Kaneda Y, Kohno S, Yamashita S. Heat-directed suicide gene therapy mediated by heat shock protein promoter for gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 629-635 [PMID: 16465423]
- 11 Holland EJ. Clinical and immunohistological studies of corneal rejection in the rat penetrating keratoplasty model. *Cornea* 1991; 10: 374-379 [DOI: 10.1097/00003226-199109000-00003]
- 12 Rosen LS. VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances. *Oncologist* 2005; 10: 382-391 [PMID: 15967832 DOI: 10.1634/theoncologist.10-6-382]
- 13 Kurth EG, Peremyslov VV, Prokhnevsky AI, Kasschau KD, Miller M, Carrington JC, Dolja VV. Virus-derived gene expression and RNA interference vector for grapevine. *J Virol* 2012; 86: 6002-6009 [PMID: 22438553]
- 14 Yan SD, Fu J, Soto C, Chen X, Zhu H, Al-Mohanna F, Collison K, Zhu A, Stern E, Saido T, Tohyama M, Ogawa S, Roher A, Stern D. An intracellular protein that binds amyloid-beta peptide and mediates neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1997; 389: 689-695 [PMID: 9338779 DOI: 10.1038/39522]
- 15 Wang S, Liu H, Ren L, Pan Y, Zhang Y. Inhibiting colorectal carcinoma growth and metastasis by blocking the expression of VEGF using RNA interference. *Neoplasia* 2008; 10: 399-407 [PMID: 18392139]
- 16 Ting L, Guiying Z, Yongheng C, Yu Xiang C, Jie P. Inhibition of Gastric Carcinoma Growth Mediated by Nanoparticles Delivered Tissue Specific Express-

- sion of yCDglyTK genes. *Cancer Biology & Therapy* 2006; 5: 1683-1690 [DOI: 10.4161/cbt.5.12.3379]
- 17 Dias S, Hattori K, Zhu Z, Heissig B, Choy M, Lane W, Wu Y, Chadburn A, Hyjek E, Gill M, Hicklin DJ,

Witte L, Moore MA, Rafii S. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J Clin Invest* 2000; 106: 511-521 [PMID: 10953026 DOI: 10.1172/JCI8978]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化

李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢

■背景资料

在我国,胆管癌是死亡率很高的恶性肿瘤之一,导致患者预后差、死亡率高的主要原因是肿瘤的侵袭转移。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去极性和上皮表型,通过特定程序转化为间质细胞的生物学过程,与恶性肿瘤的浸润转移密切相关。因此研究胆管癌的EMT过程对于改善预后、降低患者死亡率至关重要,并为临床胆管癌的治疗寻找新靶点。

李航宇, 李岩, 刘丹, 刘金钢, 中国医科大学附属盛京医院普通外科 辽宁省沈阳市 110004

孙宏治, 辽宁医学院附属第一医院普通外科 辽宁省锦州市 121001

李航宇, 副教授, 主要从事以肝胆胰为主的消化系统肿瘤及腹壁疝外科的临床和实验室研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81071955

辽宁省教育厅科技项目计划基金资助项目, No. L2010634

作者贡献分布: 此课题由李航宇与刘金钢设计; 研究过程由李岩完成; 数据分析由孙宏治完成; 论文书写由刘丹完成。

通讯作者: 刘金钢, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普通外科。

liujg@sj-hospital.org

电话: 024-96615-31611

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-06-26

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBD via the p38/MAPK signaling pathway

Hang-Yu Li, Yan Li, Dan Liu, Hong-Zhi Sun, Jin-Gang Liu

Hang-Yu Li, Yan Li, Dan Liu, Jin-Gang Liu, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Hong-Zhi Sun, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81071955; the Scientific Research Foundation of Educational Department of Liaoning Province, No. L2010634

Correspondence to: Jin-Gang Liu, Professor, Department of Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liujg@sj-hospital.org

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-06-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of LPS on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of cholangiocarcinoma ICBD cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: ICBD cells were randomly divided into four groups: a control group, a LPS (final

concentration, 10 µg/mL) group, a LPS + siRNA group, and a LPS + SB203580 group. The expression of epithelial cell surface marker E-Cadherin, stromal cell surface marker Vimentin, TLR4 and p38 was examined by real-time RT-PCR and Western blot.

RESULTS: LPS promoted the initiation of EMT of ICBD cells. The expression of TLR4 and p38 significantly increased in the process of EMT of ICBD cells. SiRNA-mediated blockage of TLR4 inhibited the occurrence of EMT and the up-regulation of p38 in ICBD cells. When p38 was blocked by SB-203580, the expression of TLR4 was still up-regulated, but EMT of ICBD cells did not occur compared to the control group.

CONCLUSION: LPS may activate TLR4 and promote EMT of cholangiocarcinoma cells via the p38/MAPK signaling pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-mesenchymal transition; Cholangiocarcinoma cells; Lipopolysaccharide; Toll-like receptor 4; P38; P38/MAPK

Li HY, Li Y, Liu D, Sun HZ, Liu JG. LPS regulates epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma cell line ICBD via the p38/MAPK signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2070-2075 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2070>

摘要

目的: 探讨脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)对胆管癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响和可能机制。

方法: 将胆管癌ICBD细胞分为4组: 正常对照组、LPS诱导实验组(终浓度10 µg/mL)、LPS+siRNA转染组和LPS+SB-203580诱导实验组。应用Real-time RT-PCR与Western blot法检测上皮细胞表面标志E-钙黏蛋白(E-cadherin)和间质细胞表面标志波形蛋白

■同行评议者

宋振顺, 教授, 西安医院肝胆外科; 康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

(Vimentin)的表达变化以及Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR4)和p38的表达变化。

结果: LPS促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生; ICBD细胞的EMT过程伴随TLR4、p38表达增加; 应用siRNA阻断TLR4后, ICBD细胞的EMT消失, LPS导致p38的上调表达作用也消失; 应用SB-203580阻断p38后, 与正常对照组相比, TLR4的表达增加, 与LPS诱导实验组相比无明显变化, 但ICBD细胞的EMT消失。

结论: LPS可以激活TLR4, 并通过p38/MAPK促进胆管癌细胞ICBD的上皮间质转化。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 上皮间质转化; 胆管癌细胞; 脂多糖; Toll样受体4; p38; p38/MAPK

核心提示: 本研究证实脂多糖(lipopolysaccharides)能够通过TLR4/p38/MAPK信号通路调控胆管癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生, 这对胆管癌侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值。如果能够使具有间质特性的细胞恢复上皮细胞特性, 就有可能逆转EMT, 阻止癌细胞的侵袭和转移, 这为临床上胆管癌的治疗提供了新的思路。

李航宇, 李岩, 刘丹, 孙宏治, 刘金钢. LPS通过p38/MAPK调控胆管癌细胞系ICBD的上皮间质转化. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2070-2075 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2070>

0 引言

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞失去极性和上皮表型, 通过特定程序转化为间质细胞的生物学过程^[1]。EMT的主要分子特征是: 上皮细胞标记物(如细胞角蛋白, cytokeratin; E-钙黏蛋白, E-cadherin)表达下调, 间质表型标志物[如 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)]; 波形蛋白(Vimentin)表达上调, 从而获得迁移与侵袭的能力, 这一过程与恶性肿瘤的浸润转移密切相关^[2]。近年来研究发现在胆管癌中也存在EMT现象^[3], 但目前关于胆管癌中EMT发生的机制尚不明确。

Toll样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)是最重要的模式识别受体之一, 通过识别病原微生物的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)介导免疫反应, 另外, TLRs还能够识别某些内源性配体, 这些配体称

之为损伤相关分子模型(damage-associated molecular patterns, DAMPs)^[4]。在肿瘤的侵袭和转移过程中, 有大量的DAMPs和PAMPs释放。越来越多的证据表明, TLRs通过识别肿瘤组织中的DAMPs和PAMPs参与多种肿瘤的发生和发展^[5]。在肿瘤微环境中, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)作为一种PAMPs发挥作用, 最初研究认为是被免疫细胞表面的TLRs识别, 近年来发现肿瘤细胞表面的TLRs也能够识别LPS, 调控肿瘤的生物行为。但在胆管癌中LPS如何调控胆管癌的发生发展尚不清楚。

LPS是革兰氏阴性杆菌外膜的重要组成部分, 作为TLR4的重要配体参与信号的跨膜转导。LPS激活TLRs信号转导通路, 活化下游的多种效应蛋白, 进而激活多种信号通路, 包括MAPK通路、PI3K通路等^[6,7]。p38是丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)家族的成员之一, 他能感受外界刺激信号, 并将转导至细胞及其核内, 引起细胞的增殖、分化、侵袭和凋亡等细胞生物学反应^[8]。我们的前期实验已证实胆管癌中TLR4表达水平明显高于癌旁组织, 那么LPS能否通过激活TLR4, 活化p38/MAPK通路, 进而介导胆管癌细胞EMT的发生有待于进一步研究。本研究应用LPS对胆管癌细胞ICBD进行体外干预, 探讨其对胆管癌EMT发生的影响及其机制, 并为临床胆管癌的治疗寻找新的靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 人胆管癌细胞系ICBD购自上海艾研生物科技有限公司, LPS购自Sigma公司, p38与p-p38抗体购自Santa Cruz公司(Santa Cruz, CA, USA), E-cadherin、Vimentin抗体购自Abcam公司, HRP标记的羊抗鼠IgG和HRP标记的羊抗兔IgG购自武汉博士德生物有限公司, RNA提取试剂盒购自大连宝生物工程有限公司, RNA PCR Kit购自Promega公司, p38抑制剂SB-203580购自Sigma公司, siRNA由Sigma公司提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胆管癌细胞系ICBD于10%胎牛血清DMEM培养液中, 37 °C, 5%CO₂培养, 2-3 d用0.25%胰酶消化传代。取对数生长期的细胞进行试验。

1.2.2 实验分组: ICBD细胞培养方式同前。细胞分成4组: 正常对照组、LPS诱导实验组(终浓度10 μ g/mL)、LPS+siRNA转染组和LPS+SB-203580

■ 研发前沿

胆管癌的侵袭转移机制非常复杂, EMT对胆管癌侵袭转移的机制日益引起人们的关注。对于胆管癌EMT过程的调控是目前研究的热点问题。

■ 相关报道

EMT与恶性肿瘤的浸润转移密切相关, 以往的研究发现在多种肿瘤组织存在EMT现象. Antoon等最新研究发现p38/MAPK通路能够调控多种肿瘤的EMT过程.

表 1 Real-time RT-PCR引物序列

引物名称		扩增片段(bp)
E-cadherin	F: 5'-CCGCCATCGCTTACA-3'	262
	R: 5'-GGCACCTGACCCCTTGTA-3'	
Vimentin	F: 5'-ACAGGCTTTAGCGAGTTATT-3'	296
	R: 5'-AAGAGGCGAACGAGGG-3'	
Toll样受体4	F: 5'-AGCTCTGCCTTCACTAC-3'	191
	R: 5'-GATGATACCAGCACGAC-3'	
p38	F: 5'-GCTGAAGATTCTGGATTTTG-3'	173
	R: 5'-GTTCTTCCAGTCAACAGCTC-3'	
GAPDH	F: 5'-GGATTTGGTCGTATTGGG-3'	312
	R: 5'-TCGCTCCTGGAAGATGG-3'	

诱导实验组.

1.2.3 Western blot检测E-cadherin、Vimentin、TLR4、p38、p-p38蛋白的表达: 按分子克隆方法提取细胞总蛋白, 经Bradford法测定蛋白浓度; 各组取60-100 g总蛋白进行10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳后转膜, 5%脱脂奶粉于室温封闭1 h, 加入相应一抗, 4 °C孵育过夜, 辣根过氧化物酶二抗(1:3000)于室温孵育2 h, ECL显色后以GAPDH为内参照, 用Image J图像分析软件进行灰度分析.

1.2.4 Real-time RT-PCR检测E-cadherin、Vimentin、TLR4、p38 mRNA的表达: LPS刺激24 h后, 分别收集各组细胞, 提取总RNA, 测定 $A_{260/280}$ 为1.75-1.95. 取2 μ g RNA, 应用逆转录试剂盒按20 μ L逆转录体系合成cDNA. PCR引物由应用软件Prima5.0设计(表1), 由北京鼎国合成. 荧光定量PCR反应体系为25 μ L, 内含500 ng cDNA模板, 终浓度为250 nmol/L的上下游引物及SYBR Green Real-time PCR Master Mix 12.5 μ L. 反应条件为95 °C 60 s; 95 °C 15 s; 退火15 s; 72 °C 45 s, 荧光收集, 40个循环. 每个样本重复3次. 以相对Ct值(即 $2^{-\Delta\Delta Ct}$)表示目的基因的相对表达量, 以空白细胞为对照.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 对上述检测结果进行t检验和方差分析, 检验水准 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 LPS可以促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生 Western blot结果显示, 与对照组细胞相比, 经过LPS诱导的胆管癌细胞ICBD中上皮细胞标志物E-cadherin蛋白的表达显著降低, 而间皮细胞的标志物Vimentin蛋白的表达显著升高(图1A).

Real-time RT-PCR结果显示: LPS诱导实验组E-cadherin mRNA的表达显著降低, 而间皮细胞的标志物Vimentin mRNA的表达显著升高(图1B). 以上结果提示: 经过LPS处理后, ICBD细胞中上皮细胞标志物表达逐渐消失, 而间质细胞标志物表达逐渐增加, LPS可以促进ICBD细胞EMT的发生.

2.2 ICBD细胞EMT过程中伴随有TLR4、p-p38表达增加 Western blot结果显示(图2A), 与对照组细胞相比, LPS诱导发生EMT的ICBD细胞中TLR4与p-p38蛋白表达显著增加($P<0.05$), p38总蛋白的表达无明显变化($P>0.05$). Real-time PCR结果显示(图2B), TLR4、p38 mRNA水平的表达情况与蛋白水平一致($P<0.05$).

2.3 LPS通过激活TLR4/p38/MAPK通路调控胆管癌ICBD细胞EMT 如图3所示, 应用siRNA阻断TLR4后, LPS刺激ICBD细胞, 与对照组相比, E-cadherin、Vimentin以及p-p38的表达无明显变化, 说明没有发生EMT. 经过SB-203580预处理后的ICBD细胞, 与对照组相比, 在LPS的作用下TLR4的表达仍上调, 但E-cadherin和Vimentin的表达无明显变化, 也没有发生EMT. 此结果说明, LPS促进ICBD细胞EMT是通过TLR4和p38来实现的, 而且p38位于TLR4的下游, 可以通过阻断TLR4抑制LPS对p38表达的影响.

3 讨论

EMT是指某些生理或者病理刺激下上皮细胞失去其上皮特征, 获得间质特性的过程, 如组织修复, 伤口愈合和器官发育等生理过程^[9,10], 而病理刺激包括组织纤维化以及肿瘤发生发展的过程, 是导致肿瘤发生侵袭转移的重要机制之一^[11,12]. 肿瘤细胞发生EMT后, 最重要的标志性变化是

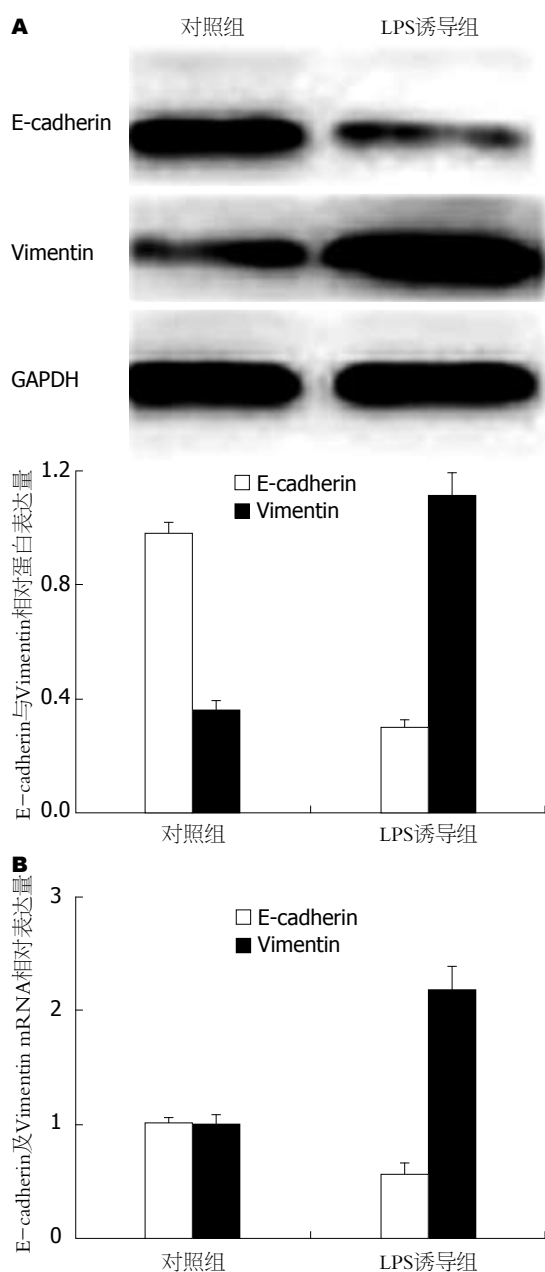


图 1 对照组与LPS诱导组E-cadherin及Vimentin的表达变化. A: Western blot检测E-cadherin及Vimentin蛋白表达变化; B: Real-time RT-PCR检测E-cadherin及Vimentin mRNA表达的变化. LPS: 脂多糖.

上皮细胞标志物E-cadherin的缺失, 这也是上皮肿瘤细胞侵袭的前提条件, 同时也伴有间质细胞表型Vimentin表达的上调^[13], 因此可以通过检测这两类细胞表面的特异性标志物来鉴定EMT的发生.

胆管癌的发生发展过程极其复杂, 一般认为对胆道的长期炎症刺激导致胆管壁慢性增生性炎症, 继而引起胆管黏膜上皮的不典型增生, 这种不典型增生是胆管癌的癌前病变, 所以胆管癌多伴有胆道感染, 胆道感染与其解剖学位

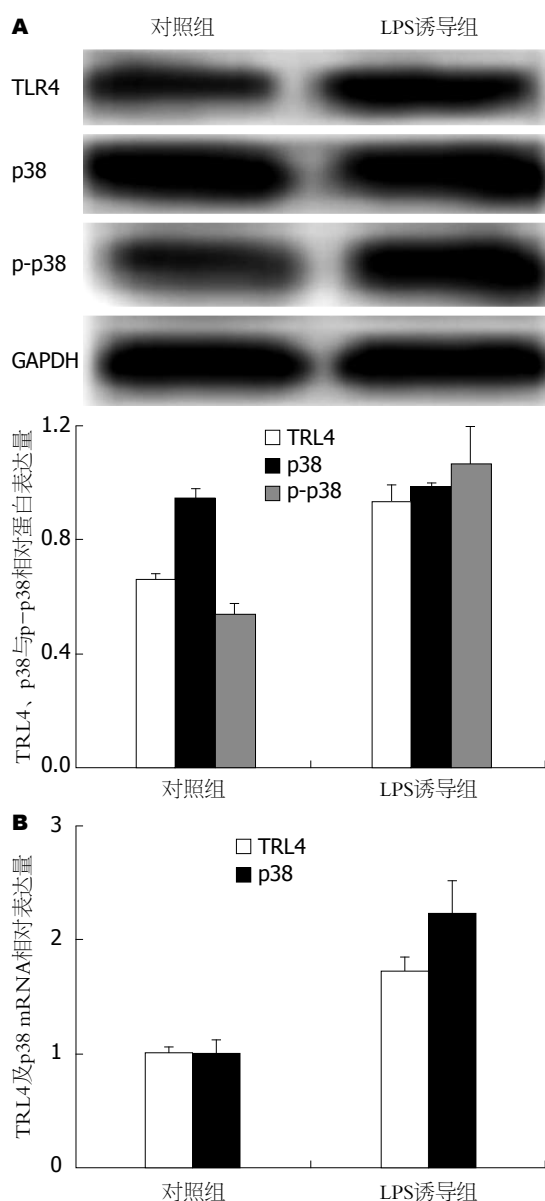


图 2 对照组与LPS诱导组TLR4、p38的表达变化. A: Western blot检测TLR4、p38及p-p38蛋白表达变化; B: Real-time RT-PCR检测TLR4及p38 mRNA表达的变化. TLR4: Toll样受体4; LPS: 脂多糖.

置有关, 细菌经胆胰壶腹逆行进入胆道, 主要以革兰阴性菌感染为主. LPS即革兰阴性菌内毒素(endotoxin), 是革兰阴性细菌的细胞壁组成成分, 具有广泛的生物学活性. 那么, 在胆管癌细胞的微环境中存在LPS, 并可能对胆管癌的发生发展起重要作用. 我们的实验发现, 在LPS的刺激下胆管癌细胞ICBD上皮细胞标志E-cadherin消失, 间质细胞标志Vimentin的表达上调, 使其获得间质化表型, 也就说胆管癌细胞ICBD在LPS的诱导下发生EMT.

LPS是通过何种方式调控胆管癌细胞EMT发生的呢? 以往的研究发现, p38/MAPK通路能

■创新盘点

本研究应用脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)对胆管癌细胞ICBD进行体外干预, 探讨LPS对胆管癌细胞上皮间质转化的影响和可能机制, 旨在为将来组织水平研究胆管癌的浸润转移机制提供理论基础, 并为胆管癌的治疗打开一个新的思路. 截至目前, 有关EMT在胆管癌浸润转移中的研究鲜见报道.

■应用要点

本研究结果表明LPS促进胆管癌细胞系ICBD的EMT发生; LPS激活TLR4, 通过p38/MAPK促进胆管癌细胞ICBD的EMT过程. 这对胆管癌浸润转移机制的阐明和治疗提供理论基础.

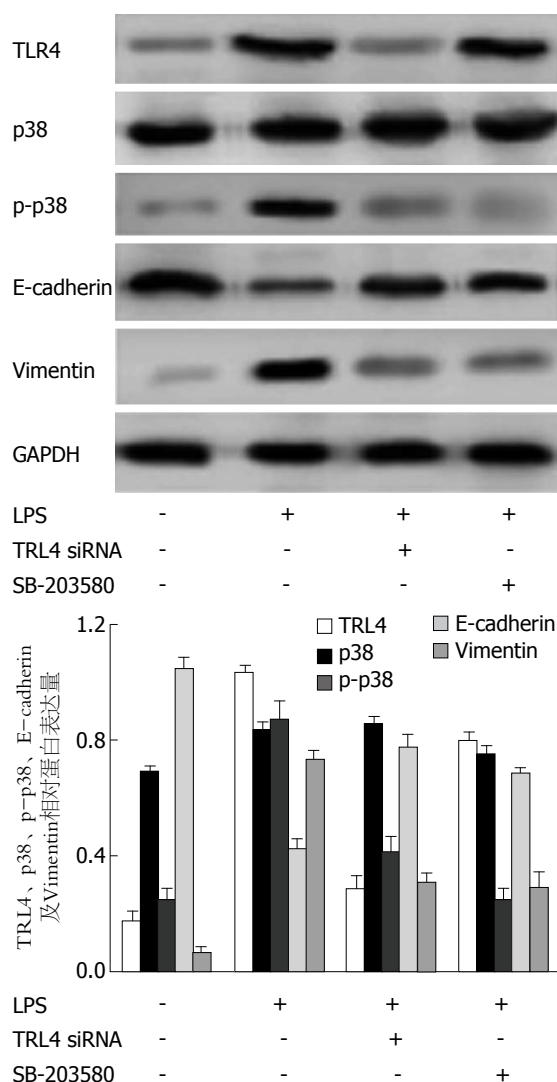


图3 TLR4 siRNA及阻断p-p38后对LPS诱导的EMT的影响. TLR4: Toll样受体4; EMT: 上皮间质转化; LPS: 脂多糖.

够调控多种肿瘤的EMT发生^[14]. MAPK是细胞内重要的信号转导通路之一, 其信号转导异常可导致恶性肿瘤快速增殖、无限生长, 并参与调控肿瘤细胞的基因表达、分化、凋亡、侵袭和转移等生物学效应^[15]. p38是MAPK家族成员之一, 研究发现, 在肿瘤细胞中细胞外多种应激如低氧、一些促炎细胞因子(如肿瘤坏死因子- α 、白介素-6)、脂多糖和革兰氏阳性菌的细胞壁成分等均可激活p38/MAPK通路^[16,17]. TLRs属于I型跨膜受体, 他能够感受肿瘤微环境的改变, 将信号转导至细胞内, 启动一系列免疫反应, 进而促进肿瘤的增殖、侵袭等. LPS作为TLR4的一种主要配体, 能够激活TLR4信号转导通路, 导致下游的多种效应蛋白表达上调, 进而活化MAPK通路, 调控肿瘤的发生发展. 我们通过Western blot与Real-time RT-PCR法证实, 在LPS诱导

ICBD细胞EMT的同时, TLR4、p38的表达明显上调, 说明TLR4、p38可能参与了LPS诱导胆管癌ICBD细胞 EMT的过程. 进一步的阻断实验发现, 阻断TLR4, EMT消失, p38的表达上调消失, 说明LPS是通过TLR4调控胆管癌细胞的EMT; 阻断p38, EMT消失, 与对照组相比, TLR4的表达仍增加, 说明LPS通过TLR4和p38调控胆管癌的EMT, 而且p38位于TLR4的下游. 该结果提示LPS诱导胆管癌细胞EMT改变是通过TLR4/p38/MAPK发挥作用.

总之, 我们的实验证实了LPS能够诱导胆管癌细胞EMT的发生, 这一过程是通TLR4/p38/MAPK信号通路调控, 这对胆管癌侵袭和转移机制的研究及治疗具有一定的价值. 如果能够使具有间质特性的细胞恢复上皮细胞特性, 就有可能逆转EMT, 阻止细胞的侵袭和转移, 这为临床上胆管癌的治疗提供了新的思路.

4 参考文献

- Gheldof A, Berx G. Cadherins and epithelial-to-mesenchymal transition. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2013; 116: 317-336 [PMID: 23481201 DOI: 10.1016/B978-0-12-394311-8.00014-5]
- Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 740-746 [PMID: 14644200 DOI: 10.1016/j.bbr.2011.03.031]
- Araki K, Shimura T, Suzuki H, Tsutsumi S, Wada W, Yajima T, Kobayashi T, Kubo N, Kuwano H. E/N-cadherin switch mediates cancer progression via TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105: 1885-1893 [PMID: 22068819 DOI: 10.1038/bjc.2011.452]
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005; 17: 1-14 [PMID: 15585605 DOI: 10.1093/intimm/dxh186]
- Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 57-63 [PMID: 19052556 DOI: 10.1038/nrc2541]
- Sato Y, Goto Y, Narita N, Hoon DS. Cancer Cells Expressing Toll-like Receptors and the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron* 2009; 2 Suppl 1: 205-214 [PMID: 19685283 DOI: 10.1007/s12307-009-0022-y]
- Krishnan J, Selvarajoo K, Tsuchiya M, Lee G, Choi S. Toll-like receptor signal transduction. *Exp Mol Med* 2007; 39: 421-438 [PMID: 17934330 DOI: 10.1038/emmm.2007.47]
- 邱建武, 郭薇, 申丽. p38MAPK在肝细胞癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 503-509
- Klymkowsky MW, Savagner P. Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe. *Am J Pathol* 2009; 174: 1588-1593 [PMID: 19342369 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080545]
- 张志发, 秦仁义, 朱峰, 王敏, 李旭, 石程剑. TGF- β 1诱导的上皮间质转化对人胆管癌细胞系GBC-SD中侧群细胞表达的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19:

- 1680-1685
- 11 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
 - 12 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
 - 13 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]
 - 14 Antoon JW, Nitzschke AM, Martin EC, Rhodes LV, Nam S, Wadsworth S, Salvo VA, Elliott S, Collins-Burow B, Nephew KP, Burow ME. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase alters microRNA expression and reverses epithelial-to-mesenchymal transition. *Int J Oncol* 2013; 42: 1139-1150 [PMID: 23403951 DOI: 10.3892/ijo.2013.1814]
 - 15 Lawrence MC, Jivan A, Shao C, Duan L, Goad D, Zaganjor E, Osborne J, McGlynn K, Stippec S, Earnest S, Chen W, Cobb MH. The roles of MAPKs in disease. *Cell Res* 2008; 18: 436-442 [PMID: 18347614 DOI: 10.1038/cr.2008.37]
 - 16 Kierner AK, Weber NC, Fürst R, Bildner N, Kulhanek-Heinze S, Vollmar AM. Inhibition of p38 MAPK activation via induction of MKP-1: atrial natriuretic peptide reduces TNF-alpha-induced actin polymerization and endothelial permeability. *Circ Res* 2002; 90: 874-881 [PMID: 11988488 DOI: 10.1161/01.RES.0000017068.58856.F3]
 - 17 Jiang Y, Gram H, Zhao M, New L, Gu J, Feng L, Di Padova F, Ulevitch RJ, Han J. Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta. *J Biol Chem* 1997; 272: 30122-30128 [PMID: 9374491 DOI: 10.1074/jbc.272.48.30122]

■同行评价

本课题设计合理, 研究过程严谨, 数据分析方法正确, 立题新颖, 具有一定的科研价值, 为胆管癌的临床治疗提供了一个新的思路。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里

■背景资料

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)在西方国家较常见,随着中国人民生活条件的改变,RE在中国的发病率呈上升趋势。RE可治愈,但容易复发,严重影响患者的生活质量,且反复发作可并发严重并发症,如食管溃疡出血、食管狭窄、Barrett食管,甚至食管癌。

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里, 南京市中西医结合医院消化内科 江苏省南京市 210014

陈昱倩, 主治医师, 讲师, 主要从事反流性食管炎的诊治及内镜下消化系早癌防治的研究。

作者贡献分布: 此课题由陈昱倩与杨璐设计; 研究过程由陈昱倩与王光铭操作完成; 数据分析由陈昱倩与杨璐完成; 本论文写作由陈昱倩、杨璐及王光铭完成, 刘万里拟定降逆汤组方, 协助课题设计, 修改论文并最终审定论文。

通讯作者: 刘万里, 副教授, 210014, 江苏省南京市玄武区孝陵卫179号, 南京市中西医结合医院消化内科。liutianwu2001@163.com
电话: 025-84446038-8322

收稿日期: 2013-05-05 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis

Yu-Qian Chen, Lu Yang, Guang-Ming Wang, Wan-Li Liu

Yu-Qian Chen, Lu Yang, Guang-Ming Wang, Wan-Li Liu, Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wan-Li Liu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Nanjing Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, 179 Xiaolingwei, Xuanwu District, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China. liutianwu2001@163.com

Received: 2013-05-05 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis (RE).

METHODS: Ninety patients with recurrent RE were randomly divided into three groups: a Jiangni Decoction group, an omeprazole group, and a Jiangni Decoction plus omeprazole group. Overall response and endoscopic response were observed 8 wk after treatment, and relapse at 6 mo after drug withdrawal was also recorded.

RESULTS: (1) Overall response: Overall response was significantly higher in the Jiangni Decoction plus omeprazole group than in the

omeprazole group and Jiangni Decoction group (96.7% vs 90.0%, 86.7%, both $P < 0.05$), but showed no significant difference between the omeprazole group and Jiangni Decoction group ($P > 0.05$); (2) Endoscopic response: In the Jiangni Decoction group, 8 patients were cured, 12 patients showed significant response, 5 patients showed no response, and the total response rate was 83.3%. In the Jiangni Decoction plus omeprazole group, 12 patients were cured, 10 patients showed significant response, 3 patients showed no response, and the total response rate was 90.0%. In the omeprazole group, 10 patients were cured, 9 patients showed significant response, 4 patients showed no response, and the total response rate was 86.7%. There was no significant difference in the total endoscopic response rate among the three groups ($P > 0.05$); (3) Relapse: The number of patients developing relapse at 6 mo after drug withdrawal was 4 (15.4%) in the Jiangni Decoction group, 4 (13.8%) in the Jiangni Decoction plus omeprazole group, and 12 (44.4%) in the omeprazole group. The relapse rate was significantly higher in the omeprazole group than in the Jiangni Decoction plus omeprazole group and Jiangni Decoction group ($P < 0.05$), but showed no significant difference between the latter two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Jiangni Decoction has similar effect to omeprazole in the treatment of RE in terms of overall response and endoscopic response. Jiangni Decoction plus omeprazole can not only improve clinical efficacy but also reduce relapse in patients with recurrent RE.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Reflux esophagitis; Jiangni Decoction; Efficacy; Relapse rate

Chen YQ, Yang L, Wang GM, Liu WL. Efficacy of Jiangni Decoction in treatment of recurrent reflux esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2076-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2076.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2076>

■同行评议者

邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

摘要

目的: 运用降逆汤治疗复发反流性食管炎(reflux esophagitis, RE), 评价其临床疗效及远期疗效。

方法: 将90例治疗后复发的RE患者随机分为3组, A组给予降逆汤治疗, B组给予降逆汤联合奥美拉唑治疗, 对照组给予奥美拉唑治疗。观察3组治疗8 wk后综合疗效、内镜疗效以及停药6 mo后复发情况。

结果: (1)综合疗效: A组、B组、对照组总有效率分别为86.7%、96.7%、90.0%, A组、对照组差异无统计学意义($P>0.05$), B组与A组、对照组差异有统计学意义($P<0.05$); (2)内镜疗效: A组治愈8例, 显效5例, 有效12例, 无效5例, 总有效率为83.3%; B组治愈12例, 显效10例, 有效5例, 无效3例, 总有效率为90.0%; 对照组治愈10例, 显效9例, 有效7例, 无效4例, 总有效率为86.7%, 3组比较无显著差异($P>0.05$); (3)远期疗效: 停药6 mo后, A组有效病例中有4例复发, B组有效病例中有4例复发, 对照组有效病例中有12例复发, 3组的复发率分别为15.4%、13.8%、44.4%, 与对照组比较, A组与对照组有显著差异($P<0.05$), B组与对照组有显著差异($P<0.05$), A、B组两组间差异性比较无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 降逆汤治疗复发反流性食管炎与奥美拉唑治疗具有相似的好转率, 并具有更低的半年复发率。降逆汤联合奥美拉唑治疗不仅能够提高复发反流性食管炎的临床疗效, 还能降低复发反流性食管炎患者的再次复发率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 反流性食管炎; 降逆汤; 临床疗效; 复发率

核心提示: 降逆汤能够有效修复食道黏膜, 促进食管蠕动, 增强抗反流机制, 符合中医辨证论治及治病必求于本的要求, 明显改善了不适症状, 若联合质子泵抑制剂(proton pump inhibitors)使用, 则具有更好的临床疗效和远期疗效。

陈昱倩, 杨璐, 王光铭, 刘万里. 降逆汤治疗复发反流性食管炎的临床疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2076-2080
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2076.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2076>

0 引言

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是由胃

和/或十二指肠内容物, 特别是酸性胃液和胆汁反流至食管, 引起食管黏膜炎症、糜烂、溃疡所致^[1]。RE在西方国家较常见, 随着中国人民生活条件的改变, RE在中国的发病率呈上升趋势^[2]。RE可治愈, 但容易复发, 严重影响患者的生活质量, 且反复发作可并发严重并发症, 如食管溃疡出血、食管狭窄、Barrett食管, 甚至食管癌。目前, 质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)是公认的治疗RE的有效药物, 其治愈率可达80%-90%, 但停药半年后其复发率达到80%^[3]。若使用PPI维持治疗, 存在治疗费用高, 不良反应多的问题。近年来, 一些学者在中医药治疗RE方面进行了探索、研究, 发现其在改善RE患者症状、抑制胃食管反流、促进食管受损黏膜修复等方面显示了良好的疗效, 使运用中医药治疗RE的研究有较大进展^[4], 具有广阔的应用前景。在前期研究中我们亦发现^[5], 中西医结合治疗RE不仅能改善患者的不适症状, 而且较单一使用中药或西药具有较低的复发率。因此, 本研究我们将继续采用我院治疗RE协定方-降逆汤联合奥美拉唑对复发RE的干预作用及远期疗效进行临床观察, 并探讨其治疗机制。

1 材料和方法

1.1 材料 来源于2010-04/2012-09南京市中西医结合医院消化内科门诊。符合西医诊断标准反流性食管炎诊断纳入标准, 且中医辨证属肝胃郁热证, 经西医规范治疗8-12 wk停药后复发的患者90例, 分为A组、B组、对照组各30例。A组男10例, 女20例, 平均年龄52.86岁±11.37岁, 平均病程13.12 mo±11.90 mo; B组男11例, 女19例, 平均年龄51.28岁±12.08岁, 平均病程12.26 mo±10.82 mo; 对照组男12例, 女18例, 平均年龄52.82岁±12.47岁, 平均病程3.14 mo±11.91 mo。各组患者性别、年龄、病程无显著差异($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 西医诊断标准: 根据中华医学会消化内镜学分会制定的《反流性食管炎诊断及治疗指南(2003年)》, 分级 I a-III级(0级: 正常(可有组织学改变); I a点状或条状发红、糜烂<2处; I b点状或条状发红、糜烂≥2处; II级: 有条状发红、糜烂, 并有融合, 但并非全周性, 融合<75%; III级: 病变广泛, 发红、糜烂融合呈全周性, 融合≥75%)。同时具有以下反流性食管炎典型症状之

■ 研发前沿

目前, PPI是公认的治疗RE的有效药物, 其治愈率可达80%-90%, 但停药半年后其复发率达到80%。近年来, 一些学者发现中医药在改善RE患者症状、抑制胃食管反流、促进食管受损黏膜修复等方面显示了良好的疗效, 使运用中医药治疗RE的研究有较大进展, 具有广阔的应用前景。

■ 创新盘点

利用中药疗效单一或联合西药治疗RE, 提高治疗效果, 降低复发率, 同时降低治疗成本, 减少长期服药的不良反应, 提高患者治疗依从性。

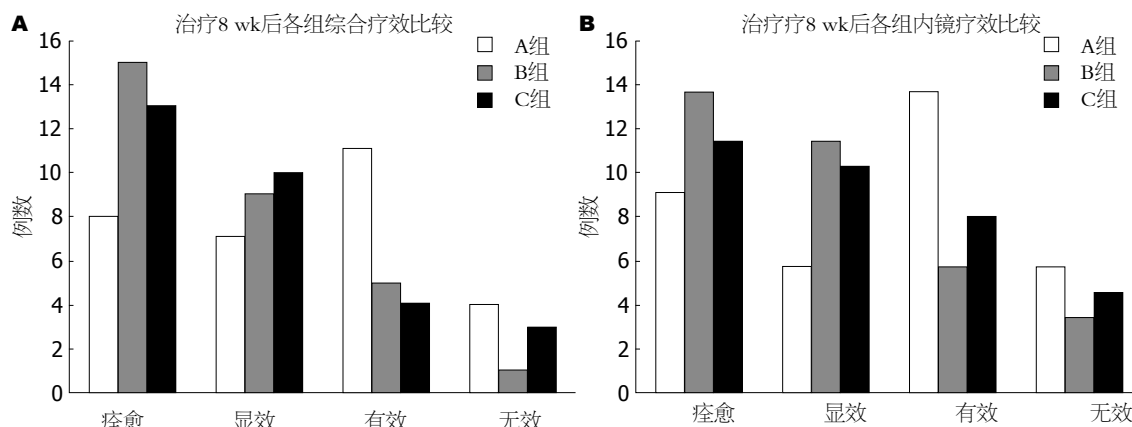


图1 降逆汤、降逆汤联合奥美拉唑、奥美拉唑治疗反流性食管炎疗效的比较. A: 综合疗效; B: 内镜疗效. A组: 降逆汤; B组: 降逆汤联合奥美拉唑; C组: 奥美拉唑.

一: 烧心、反酸、胸骨后灼痛等。

1.2.2 中医诊断标准: 参照《国家中医病证分类与代码》和《中医内科学》(王永炎主编). 肝胃郁热证主症为胃灼热、泛酸; 次症包括胸痛连胁、胃脘灼痛、脘腹胀满、嗳气或反胃、心烦易怒、饥饿感6项; 舌脉为舌红、苔黄, 脉弦数. 主症必备, 次症具备2项以上, 结合舌脉即可诊断. 纳入标准: 符合反流性食管炎诊断标准及中医胃食管反流病肝胃郁热证; 经西医规范治疗8-12 wk停药后复发; 年龄在18-75岁之间, 性别不限; 受试者知情同意。

1.2.3 排除标准: 妊娠和哺乳期妇女; 消化性溃疡; 癌性溃疡和未能排除癌变可能的溃疡(中重度异常增生者要排除); 有明确的降低胃酸手术史或食管或胃手术史; 食管或胃底静脉曲张; 卓-艾综合征; 有严重并发症, 如食管狭窄或Barrett's食管; 有消化系统其他严重疾病, 如克罗恩病、溃疡性结肠炎等; 有严重的心、肝、肺、肾、血液、内分泌系统疾病; 入选前4 wk内服用其他影响胃肠道功能的药物; 需长期服用降低食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)张力或影响胃肠动力的药物。

1.2.4 治疗方案: A组: 降逆汤(黄连3 g、吴茱萸1 g、竹茹10 g、炒枳壳10 g、煅乌贼骨15 g、大贝母12 g、白芨10 g)水煎服, 2次/d, 空腹服用; B组: 降逆汤2次/d, 奥美拉唑20 mg, 2次/d, 空腹服用; 对照组: 奥美拉唑20 mg 2次/d, 空腹服用, 疗程为8 wk。

1.2.5 疗效评定标准: (1)RDQ评分: 参考中国胃食管反流病研究协作组的《反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值》^[6]; (2)发作频率评分: 按烧心、胸骨后疼痛、泛酸、反食等

4种为统计症状, 无症状为0分, 症状出现频度< 1 d/wk、1、2-3、4-5以及6-7 d/wk分别记为1、2、3、4及5分; (3)按症状程度评分: 症状不明显, 在医师提醒下发现为1分; 症状明显, 影响日常生活, 偶尔服药为3分; 症状非常明显, 影响日常生活, 需长期服药治疗为5分. 症状介于1分和3分之间为2分, 介于3分和5分之间为4分. 症状改善率 = (治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分 × 100%; 症状消失为痊愈; 症状改善 ≥ 80%为显效; 50% ≤ 症状改善 < 80%为有效; 症状改善 < 50%为无效; 症状改善率负值时为恶化; (4)综合疗效根据痊愈、显效和有效病例数之和计算总有效率; (5)内镜疗效: 痊愈: 病变完全消失; 显效: 分级减轻2个级别; 有效: 分级有所减轻, 但未达2个级别; 无效: 镜下无改善或分级加重. 根据痊愈、显效和有效例数之和计算总有效率; (6)远期疗效: RDQ评分较治疗前降低 ≤ 50%判为复发; RDQ评分较治疗前降低 > 50%判为未复发。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行统计处理, 计量资料采用配对t检验或方差分析, 等级资料采用秩和检验. 3组率比较用 χ^2 检验, 两组率比较必要时选用四格表的Fisher精确概率法; $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 综合疗效 A组、B组与对照组总有效率分别为86.7%、96.7%、90.0%. 经秩和检验, A组、对照组差异无统计学意义($P > 0.05$), B组与A组、对照组差异有统计学意义($P < 0.05$, 图1)。

2.2 内镜疗效 A组、B组与对照组总有效率分别为83.3%、90.0%、86.7%, 3组间差异无统计学意义($P > 0.05$, 图1)。

表 1 停药6 mo后各组复发率比较 (n)

分组	有效	复发	未复发	复发率(%)
降逆汤	26	4	22	15.4
降逆汤联合奥美拉唑	29	4	25	13.8
奥美拉唑	27	12	15	44.4

2.3 远期疗效 停药6 mo后A组、B组及对照组复发率分别为15.4%、13.8%、44.4%(表1)。A组与对照组比较有统计学意义($P<0.05$); B组与对照组比较有统计学意义($P<0.05$); A、B两组间比较无统计学意义($P>0.05$, 表2)。

3 讨论

反流性食管炎可归于中医学中的“胸痛”、“吐酸”、“胃脘痛”、“噎膈”等病证范畴。目前对于本病还没有一个统一、公认的中医辨证分型方法和标准, 临床常见证型分肝胃郁热、肝胃不和、痰气郁阻、脾胃虚弱、脾胃湿热、胃阴不足6型即可覆盖临床96.2%的病例^[7], 其中以肝胃郁热、肝胃不和证所占比例最大。我们认为, 肝胃不和及肝胃郁热两型只是疾病发展过程中的不同阶段而已, 实属同一病理机制。前者一般认为是疾病发展的早期阶段。两者在症状表现及治疗上亦有相通之处, 故二者在临床上界限不易分清。两者共同的病机在于肝气不疏, 横逆犯胃, 胃气不降, 上逆为病, 久则气机郁滞, 郁而化热, 所谓“气有余便是火”, 出现“郁热”表现, 此所谓“肝胃郁热”证。两型都表明肝气不疏, 横逆犯胃, 胃失和降, 胃气上逆为RE的主要病机, 治疗当主要以疏肝和胃, 理气通降为法治疗。降逆汤系我院治疗反流性食管炎的经验方。方中黄连苦寒, 泻心清火, 又善清胃降逆, 制酸止呕; 吴茱萸辛热, 入肝经, 调和肝胃, 降逆止呕, 行气解郁, 又能引热下行, 以为反佐。一寒一热, 寒者正治, 热者从治。竹茹清热降逆止呕, 枳壳疏肝理气, 升降相因有助于气血运行。乌贼骨、大贝母制酸和胃止痛; 白芨降逆止呕, 收敛消肿。全方有疏肝理气、和胃降逆、辛开苦降、抑酸止痛之功。

反流性食管炎发病机制目前国内研究已比较完善, 主要与抗反流屏障功能降低、食管酸廓清能力降低、食管黏膜屏障破坏、胃十二指肠功能异常等有关。因此, 治疗原则以抑制胃酸分泌、抗反流以及增强食管防御功能为主。

表 2 停药6 mo后各组复发率差异性比较

分组	有效(n)	未复发n(%)	复发n(%)
降逆汤	26 ^a	22(84.6) ^a	4(15.4)
降逆汤联合奥美拉唑	29 ^c	25(86.2) ^c	4(13.8)
奥美拉唑	27	15(55.6)	12(44.4)

^a $P<0.05$ vs 奥美拉唑; ^c $P<0.05$ vs 奥美拉唑。

现代药理研究表明, 黄连具有抗菌、抗病毒及解痉、调整胃肠平滑肌收缩等功能^[8], 吴茱萸中所含的吴茱萸苦素为苦味质, 有苦味健胃作用, 其所含的挥发油又具有芳香健胃作用^[9,10]。乌贼骨所含的胶质成分可在糜烂或溃疡面形成保护膜, 有利于食管黏膜的修复和溃疡面的愈合^[11], 白芨降逆止呕, 收敛消肿, 抑菌止血, 具有高度黏性, 含有胶体状成分, 能在受损黏膜表面形成一层保护膜, 可防护黏膜受损^[12,13], 与乌贼骨配合, 可使药液黏滞, 覆于黏膜, 增强屏障作用^[14,15]。说明本方可以通过保护食道黏膜, 促进受损食道黏膜修复, 调整胃肠功能, 防止反流等多种途径来发挥治疗作用。我们观察发现, 经降逆汤治疗复发性RE肝胃郁热证的患者, 综合疗效总有效率约86.7%, 与对照组相比, 无明显差异($P>0.05$)。若运用降逆汤联合奥美拉唑治疗, 综合疗效总有效率可达96.7%, 与对照组相比, 有显著差异($P<0.05$), 而3组间内镜疗效比较无显著差异($P>0.05$)。停药6 mo后, 降逆汤组以及降逆汤联合奥美拉唑组复发率均明显低于单独使用奥美拉唑组, 经统计比较有显著差异($P<0.05$), 但两组间比较无统计学差异($P>0.05$)。

总之, 降逆汤能够有效修复食道黏膜, 促进食管蠕动, 增强抗反流机制, 符合中医辨证论治及治病必求于本的要求, 明显改善了不适症状, 其治疗复发反流性食管炎与奥美拉唑治疗具有相似的好转率, 并具有更低的半年复发率。若联合奥美拉唑使用, 不仅能够提高复发反流性食管炎的临床疗效, 还能降低复发反流性食管炎患者的再次复发率。

4 参考文献

- 中华医学会消化内镜学会. 反流性食管炎诊断及治疗指南. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 221
- 郭文娟, 张艳丽. 胃食管反流病的诊治. 中国临床医生 2011; 39: 23-26
- 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 胃食管反流病治疗共识意见. 现代消化及介入诊疗 2008; 13:

■应用要点

利用中药的疗效单一或联合西医治疗RE, 提高治疗效果, 降低复发率。随着人民生活水平的不断提高, 现代生活节奏加快, 饮食结构的改变, RE在中国的发病率呈上升趋势。利用中药的疗效单一或联合西医治疗RE, 疗效可靠, 复发率低, 应用简单, 有良好的临床应用前景。

■同行评价

降逆汤治疗复发反流性食管炎临床疗效及远期疗效观察有较好的临床指导意义。

- 71-72
- 4 王学, 王金玲. 自拟通降安胃汤治疗反流性食管炎50例. 中国中医药信息杂志 2010; 17: 63-64
- 5 陈昱倩, 李学良, 刘万里. 降逆汤治疗反流性食管炎150例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2664-2667
- 6 中国胃食管反流病研究协作组. 反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值. 中华消化杂志 2003; 23: 651-654
- 7 上杉宁幸, 中村真一. 逆流性食管炎の病理诊断. 胃と肠 1999; 34: 1001-1007
- 8 王捷虹, 秋增超. 对药在治疗脘腹痛中的运用. 河南中医 2010; 30: 88-89
- 9 郭惠, 杨云云, 王昌利. 吴茱萸碱药理研究进展. 陕西中医 2010; 31: 1685-1686
- 10 姚东英. 和胃降逆法治疗反流性食管炎60例. 浙江中医杂志 2009; 44: 493-493
- 11 朱炳良. 海螵蛸大贝母治疗反流性食管炎32例. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1098-1099
- 12 王磊, 杨立娟. 白芨治疗胃溃疡临床应用与进展. 黑龙江医药 2010; 23: 789-790
- 13 陈培琼, 陈慧, 黄德平. 乌贝散加味联合西沙必利治疗反流性食管炎. 广东医学 2000; 21: 435-436
- 14 国家中医药管理局. 中华本草. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 2386
- 15 黄泰康. 常用中药成分与药理手册. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 879

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 河北唐山工人医院胸外科 河北省唐山市 063000
吴爱萍, 河北联合大学病理教研室 河北省唐山市 063000
高杨, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的外科治疗与研究。
作者贡献分布: 此课题由高杨设计; 研究过程由高杨、吴爱萍、李岩及周海英实施完成; 数据分析由高杨、周海英及李岩完成; 本论文写作由高杨、吴爱萍、李岩、周海英及闫继东共同完成。
通讯作者: 吴爱萍, 讲师, 063000, 河北唐山市路北区建设南路57号, 河北联合大学病理教研室。chan99@163.com
收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-06
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma

Yang Gao, Yan Li, Hai-Ying Zhou, Ji-Dong Yan, Ai-Ping Wu

Yang Gao, Yan Li, Hai-Ying Zhou, Ji-Dong Yan, Tangshan Worker's Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Ai-Ping Wu, Department of Pathology, Hebei United University, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Correspondence to: Ai-Ping Wu, Lecturer, Department of Pathology, Hebei United University, 57 Jianshe South Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. chan99@163.com
Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-06
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To assess the correlation between the expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

METHODS: Ninety patients with ESCC were included in this study. Immunohistochemistry was performed to detect the expression of SPARC in ESCC specimens and tumor-adjacent tissue specimens collected from the above patients. Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of patients with ESCC was then analyzed.

RESULTS: Of 90 ESCC specimens, 73 were posi-

tive for SPARC expression, and 17 were negative. In contrast, SPARC expression was not detected in all tumor-adjacent tissue samples. The positive rate of SPARC expression was significantly higher in ESCC than in tumor-adjacent tissue ($P < 0.05$). Positive SPARC signal was located mainly in the intercellular space (65 cases) and occasionally in the cytoplasm (8 cases). SPARC expression in tumor tissues was closely related to tumor stage and metastasis (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: SPARC expression can be used as a predictor of ESCC stage and prognosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Secreted protein acidic and rich in cysteine; Immunohistochemistry; Survival

Gao Y, Li Y, Zhou HY, Yan JD, Wu AP. Correlation between SPARC expression and clinical characteristics of esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2081-2085 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2081>

摘要

目的: 观察食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)的表达与患者临床特征的关联。

方法: 收集90例诊断为ESCC患者的肿瘤组织及癌旁组织, 采用免疫组织化学检测肿瘤组织及癌旁组织中SPARC的表达, 并探讨其表达与食管癌患者临床特征的关系。

结果: 肿瘤组织中有73例SPARC表达阳性, 阳性率81.11%, 癌旁组织中SPARC表达均为阴性。肿瘤组织与癌旁组织SPARC表达阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。72.22%(65例)SPARC阳性表达均位于细胞间质, 少量(8.89%, 8例)位于

■背景资料

食管癌在我国的发病率较高, 是影响居民生命与健康的重要疾病之一。目前对于食管癌的临床治疗, 早期多以手术为主, 中晚期以放化疗为主。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是食管癌中比较多见的一种病理类型。目前认为, 引起食管癌的相关危险因素主要有: 进食含亚硝胺类较多的食物(如喜欢腌制酸菜)或霉变食品、长期喜进烫食(如潮汕人食管癌发病率可能与长期喝功夫茶有关)、不良嗜好(如吸烟、饮酒)等。我国是食管癌高发地区, 位居肿瘤死亡第4位。

■同行评议者

王建国, 副教授, 南京医科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系

■研发前沿

酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)又被称为骨连接蛋白,主要参与胚胎发育、血管生成、组织重塑、细胞更新及组织修复等。SPARC被认为与临床多种肿瘤的发生、发展和预后密切相关。

细胞质。肿瘤组织中SPARC表达与肿瘤分期、转移与否密切相关($P<0.05$)。

结论: 对ESCC患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管鳞状细胞癌; 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白; 免疫组织化学; 生存

核心提示: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)在肿瘤患者肿瘤组织内存在较高的表达, 特别在组织修复与侵袭性恶性肿瘤相关的组织中, SPARC的表达量更高。对食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标。可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物。

高杨, 李岩, 周海英, 闫继东, 吴爱萍. 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2081-2085 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2081>

0 引言

食管癌在我国的发生率较高, 是影响居民生命与健康的重要疾病之一。目前对于食管癌的临床治疗, 早期多以手术为主, 中晚期以放化疗为主^[1]。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是食管癌中比较多见的一种病理类型^[2]。酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)又被称为骨连接蛋白, 主要参与胚胎发育、血管生成、组织重塑、细胞更新及组织修复等^[3]。SPARC被认为与临床多种肿瘤的发生、发展和预后密切相关。已有文献表明^[4,5], 在ESCC患者的肿瘤组织中, 能见到明显的SPARC表达, 但SPARC表达量高低与食管癌临床特征和预后的研究较少, 因此, 笔者进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入我院2010-01/2012-12诊断为ESCC的患者90例。其中男58例, 女32例, 年龄46-77岁, 平均年龄59.1岁±13.2岁。患者均已经手术治疗, 术后病理确诊为ESCC。收集手术切除的肿瘤组织标本和肿瘤组织边缘4 cm左

右处的癌旁组织, 并用甲醛溶液固定。患者在术前均未进行过放化疗或其他形式, 如分子靶向治疗等治疗。本研究在实施前已得到我院伦理委员会的批准。同时亦取得患者及家属充分理解、知情, 研究实施前均已签署知情同意书。SPARC鼠抗人单克隆抗体(Abcam公司), 二氨基联苯胺(DAB), 枸橼酸盐缓冲液, 赖氨酸白乳剂, 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L)等。

1.2 方法

1.2.1 检测: 分别取肿瘤组织与癌旁组织, 进行常规固定、脱水、石蜡包埋、切片、HE染色以及封片等工作。SPARC的阳性表达检查采用免疫组织化学PV法检测。PV试剂盒购自北京中山金桥生物技术有限公司。SPARC抗体首先进行稀释, 倍数为1:50, 所有操作均按试剂盒说明书进行。

1.2.2 结果判定: 免疫组织化学结果的判定由2位至少工作10年以上的病理科医师进行, 使用半定量评分系统对SPARC表达阳性的强度进行评定。对ESCC肿瘤组织中以及癌旁组织中细胞间质染色的阳性颗粒进行观察。染色评定标准如下: (1)阴性: (-), 细胞间质无阳性颗粒表达; (2)阳性: (+), 细胞间质有阳性颗粒表达, 阳性颗粒<30%; (3)强阳性: (++), 细胞间质有阳性颗粒表达, 阳性颗粒≥30%。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计数资料用百分率表示, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 全部统计方法均采用双侧检验, 将以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

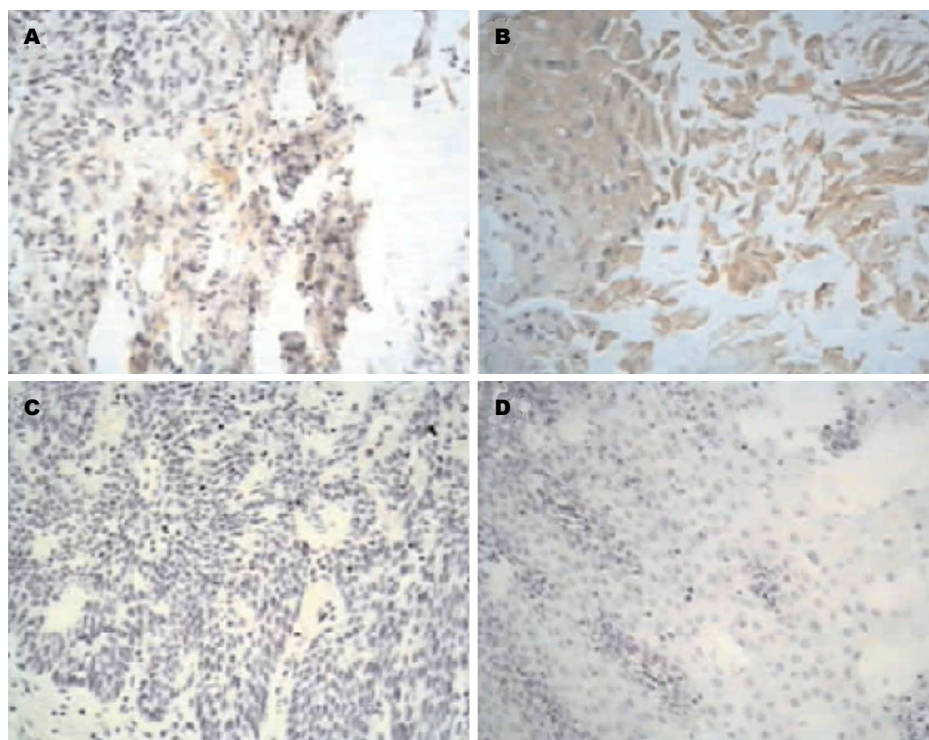
2 结果

2.1 ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的表达分析 经免疫组织化学检测, SPARC阳性颗粒的表达大多位于肿瘤组织细胞间质(图1A), 仅有8例样本中SPARC阳性颗粒的表达位于肿瘤组织细胞质(图1B)。肿瘤组织中大部分SPARC表达阳性(+、++), 小部分呈阴性(-)(图1C)。癌旁组织中, SPARC表达均为阴性(-)(图1D)。ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 SPARC表达与临床特征的关联分析 我们对患者的性别、年龄、肿瘤分化程度、肿瘤分期、肿瘤转移与否、饮食喜好(饮酒, 腌制食品)、家族(食管癌)病史等情况进行关联研究。结果显示, SPARC的表达与患者的性别、年龄、肿瘤分化程度、饮食喜好、家族病史等因

■相关报道

有学者曾对36例食管癌患者的肿瘤组织进行免疫组织化学检测, 发现绝大多数组织样本中SPARC阳性颗粒表达均位于癌细胞的细胞胞质中, 只有极少数的标本SPARC阳性颗粒位于癌细胞的细胞核内。国外的研究亦证明, 在食管癌与乳腺癌患者中, 大部分SPARC阳性颗粒表达位于癌细胞的细胞间质, 少量表达于肿瘤细胞内。在本研究中的结果与既往报道一致。



■创新盘点
SPARC表达量高低与食管癌临床特征和预后的研究较少, 因此, 笔者进行了研究。

图 1 SPARC在食管鳞状细胞癌细胞与正常细胞中的表达(HE × 200). A: SPARC在基质中的阳性表达; B: SPARC在肿瘤细胞及基质中的阳性表达; C: SPARC在肿瘤细胞中的阴性表达; D: SPARC在正常细胞中的阴性表达. SPARC: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白。

表 1 ESCC肿瘤组织中与癌旁组织中SPARC的表达分析 ($n = 90$, mean \pm SD)

分组	阳性表达(n)	阴性表达(n)	阳性表达率(%)
肿瘤组织	73	17	81.11 ^a
癌旁组织	0	90	0

^a $P < 0.05$ vs 癌旁组织组. SPARC: 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白; ESCC: 食管鳞状细胞癌。

素的关联无统计学意义($P > 0.05$). SPARC的表达与肿瘤分期、肿瘤转移与否等因素的关联有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

随着实验研究已经证实, SPARC在肿瘤患者肿瘤组织内存在较高的表达, 特别在组织修复与侵袭性恶性肿瘤相关的组织中, SPARC的表达量更高^[6]。有学者曾对36例食管癌患者的肿瘤组织进行免疫组织化学检测, 发现绝大多数组织样本中SPARC阳性颗粒表达均位于癌细胞的细胞胞质中, 只有极少数的标本SPARC阳性颗粒位于癌细胞的细胞核内^[7]。国外的研究亦证明^[8], 在食管癌与乳腺癌患者中, 大部分SPARC阳性颗粒表达位于癌细胞的细胞间质, 少量表达于肿瘤细胞内。本研究中的结果与既往报道一致。

ESCC患者的肿瘤细胞中可观察到与增生、凋亡、分化与转移相关的多种基因的表达发生变化^[9]。SPARC是正常细胞恶变和肿瘤发生发展过程中一个重要的分子, SPARC可以调控多种肿瘤相关细胞因子及其受体的相互作用和多种信号传导通路以及蛋白水解酶的表达水平, 并且具有调节肿瘤组织内血管生成、促进上皮间叶细胞转化(epithelial mesenchymal transtion, EMT)转变的作用^[10,11]。但是, SPARC对肿瘤的影响具有组织特异性, 原因可能包括^[12,13]: (1)特定肿瘤内的蛋白水解酶对SPARC蛋白进行了特异性的剪切, 而不同的蛋白水解片段对肿瘤产生的影响不同; (2)不同肿瘤的细胞因子及其受体的表达情况不同, 细胞因子的亲和力也不同; (3)SPARC蛋白的表达对一系列细胞因子及其受体的表达有调控作用。进一步研究SPARC在不

■应用要点

对ESCC患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标. 可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物.

表 2 SPARC表达与临床特征的关联分析 (*n*)

相关因素	<i>n</i>	阳性(+ / ++)	阴性	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				0.225	0.984
男	58	47	11		
女	32	26	6		
年龄(岁)				2.896	0.105
<60	53	40	13		
≥60	37	33	4		
肿瘤分化程度				0.545	0.800
低分化	16	14	2		
中分化	53	45	8		
高分化	21	14	7		
肿瘤分期				34.12	0.002
I	8	2	6		
II	39	31	8		
III/IV	43	40	3		
肿瘤转移				7.79	0.001
有	40	38	2		
无	50	34	16		
饮食喜好				0.89	0.867
有	25	20	5		
无	65	53	12		
家族病史				0.10	0.186
有	8	5	3		
无	82	68	14		

同肿瘤内的作用机制及调节机制将有助于深入理解SPARC及其亚基对恶性肿瘤侵袭转移、血管形成的病理生理过程, 并能为癌症的治疗提供新的思路.

研究认为^[14], 与ESCC有密切联系的蛋白质如果出现改变, 会在肿瘤组织中、血液或体液中留下可以查找的证据, 临床上称为肿瘤标志物. 近几年来, 关于食管癌肿瘤标志物的寻找在持续进行, 发现了一些可能作为潜在的食管癌肿瘤标志物的相关蛋白或基因, 如: 人体抑癌基因53(*p53*)、鳞癌细胞抗原(SCC-Ag)、细胞角蛋白19片段(CYFR21-1)等. 但是随着研究的不断深入, 发现真正能够应用于临床诊断、预测食管癌发生、发展的肿瘤标志物较少. 如*p53*与SCC-Ag的敏感度较差, 用于预测食管癌转移与否的意义较小. CYFR21-1对中晚期患者, 特别是出现肿瘤复发或转移的患者具有较高的敏感性, 能够提示食管癌患者是否存在肿瘤的复发或转移. 但是, 一些文献报道, CYFR21-1对于病灶较大的肿瘤有较好的敏感性, 但是对于小肿瘤特别在微小肿瘤, 效果不理想^[15].

SPARC是近年来研究的一个新热点, 已

有一些报道认为SPARC可能与多种肿瘤的发生、发展、预后密切相关. 本研究对SPARC在ESCC患者肿瘤组织内的表达进行了观察, 发现SPARC在ESCC患者肿瘤组织内的表达率较高, 达到了81.11%, 在癌旁组织中表达均呈阴性, 提示SPARC可能作为临床预测食管癌的一种潜在的生物标志物. 进一步对SPARC表达与否和食管癌临床特征进行了关联分析, 发现SPARC的表达与ESCC患者的肿瘤分期、肿瘤转移存在关联, 说明SPARC有可能用来预测ESCC患者的肿瘤分期, 并能对判断是否出现肿瘤转移提供证据. SPARC的表达受到的影响因素较少, 能够较为客观在反应ESCC患者的检测结果. 此外, SPARC在ESCC患者肿瘤组织内出现明显的上调且又为分泌蛋白, 这就为通过检测SPARC蛋白来预测食管癌的转移、预后指明了研究方向.

总之, 对ESCC患者进行SPARC检查, 可以作为预测食管鳞癌分期、转移的重要指标. 可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物.

4 参考文献

- 1 郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华. miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1685-1692
- 2 许牧, 曹毅, 蒋蒙蒙, 揭志刚, 李正荣. miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1693-1700
- 3 韩伟, 杨迷玲, 翟丽丽, 单丽辉, 柴翠翠, 齐蕾, 胡成乙, 王立峰. 胃癌中SPARC、TGFβ1和Ki-67的表达及意义. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 594-597, 602
- 4 庞霞, 李晟磊, 赵志华, 张红新, 高冬玲. TGF-β1、TIEG1和Stathmin蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 327-331
- 5 杨迷玲, 翟丽丽, 马丽华, 齐蕾, 单丽辉, 柴翠翠, 胡成乙, 王立峰. SPARC和VEGF在胃癌组织中的表达及与血管生成的关系. 诊断病理学杂志 2012; 19: 52-55
- 6 瞿文娟, 陈德智, 李志勇. 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白的研究进展. 国际内分泌代谢杂志 2012; 32: 94-96
- 7 冯丹, 蔡建, 张颖一, 卫子然, 王雅杰. SPARC在恶性肿瘤中的研究进展. 医学研究杂志 2011; 40: 13-16
- 8 杨万广, 王万鹏, 张谢夫. ALDH1A2、MMP2和E-cadherin在结肠癌组织中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 362-366
- 9 郑秋青, 凌志强, 李沛, 程蕾, 毛伟敏. RASSF1A在食管鳞癌组织中的表达、甲基化状态及其与预后之间的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3134-3139
- 10 刘方方, 葛军辉, 刘惠敏, 何金, 袁振刚, 王良哲, 马小梅. 核转录因子-κB在原发性胃肠道弥漫性大B细胞淋巴瘤中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1476-1482
- 11 董明霞, 杨彦华, 于建宪. 胃癌组织SPARC表达及其意义. 齐鲁医学杂志 2011; 26: 105-107, 110
- 12 张剑, 吴敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂. SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖

- 13 及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1740-1744
尹杰, 陈国卫, 刘斯, 刘玉村. SPARC对胃癌细胞系 HGC27体内侵袭能力及MMP-2表达的影响. 中国医药导刊 2010; 12: 1387-1388
- 14 杨筱瑶, 宋海燕, 王爽, 李婷婷. 富含半胱氨酸的酸性

- 分泌蛋白在糖尿病及其并发症的研究进展. 临床荟萃 2012; 27: 1917-1920
- 15 邵颖铤, 李静, 陈英, 杨春敏, 范勤, 唐合兰, 贾敏, 王建昌, 辛益妹. 正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1733-1739

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文可以为临床诊断、治疗ESCC提供新的思路和方法, 同时也为食管癌的诊治提供了特异性更高的分子标志物, 值得临床推广, 具有一定临床实用价值。

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响

周颖, 周忠杰, 许琦华

■背景资料

胃癌是严重危害人类健康最常见的恶性肿瘤之一。人群感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可能增加罹患胃癌的风险。理论上, 根除*H. pylori*作为干预预防手段, 有可能阻断胃黏膜萎缩和肠上皮化生的进一步发展, 减少胃癌发生的危险性。但迄今为止, 根除*H. pylori*能否改善胃黏膜萎缩和肠上皮化生尚不确定。

周颖, 周忠杰, 许琦华, 上海市第七人民医院消化科 上海市 200137

周颖, 2011年中国人民解放军第二军医大学硕士, 主治医师, 主要从事消化内镜的相关工作。

浦东新区卫生系统优秀青年医学人才培养基金资助项目

作者贡献分布: 数据分析与论文写作由周颖完成; 研究过程由周颖、周忠杰及许琦华操作完成。

通讯作者: 周颖, 主治医师, 200137, 上海市浦东新区大同路358号, 上海市第七人民医院消化科内镜室。loverabbi@hotmail.com

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-05-30

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis

Ying Zhou, Zhong-Jie Zhou, Qi-Hua Xu

Ying Zhou, Zhong-Jie Zhou, Qi-Hua Xu, Department of Gastroenterology, Shanghai 7th People's Hospital, Shanghai 200137, China

Supported by: the Foundation for Excellent Young Medical Talents in Health System of Pudong New District

Correspondence to: Ying Zhou, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai 7th People's Hospital, 358 Datong Road, Pudong Xinqu, Shanghai 200137, China. loverabbi@hotmail.com

Received: 2013-04-28 Revised: 2013-05-30

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis.

METHODS: Three hundred and ninety-two patients with atrophic gastritis and intestinal metaplasia who were treated from August 2009 to December 2009 at Shanghai 7th People's Hospital were enrolled, of whom 300 were followed for 1 and 3 years by narrow band imaging-magnifying endoscopy (NBI-ME) and histopathological analysis after *H. pylori* eradication.

RESULTS: In patients with successful eradication, grades of disease activity and chronic inflammation significantly decreased at 1 year (in the antrum: 1.41 ± 0.64 vs 1.21 ± 0.65 , 1.83 ± 0.59

vs 1.43 ± 0.50 ; in the corpus: 1.36 ± 0.67 vs 1.18 ± 0.67 , 1.71 ± 0.46 vs 1.35 ± 0.48 , all $P < 0.005$) and 3 years (in the antrum: 1.51 ± 0.62 vs 1.31 ± 0.69 , 1.97 ± 0.60 vs 1.46 ± 0.50 ; in the corpus: 1.48 ± 0.65 vs 1.26 ± 0.69 , 1.90 ± 0.56 vs 1.46 ± 0.50 , all $P < 0.005$). The grade of corpus atrophy also significantly decreased at 1 year (1.54 ± 0.65 vs 1.36 ± 0.68 , $P < 0.005$) and 3 years (1.68 ± 0.65 vs 1.50 ± 0.69 , $P < 0.005$) after successful eradication. However, there was no significant change in intestinal metaplasia in both the antrum and corpus.

CONCLUSION: Eradication of *H. pylori* results in the alleviation of the severity of gastritis and the reversion of gastric atrophy in the corpus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Eradication; Atrophic gastritis; Intestinal metaplasia

Zhou Y, Zhou ZJ, Xu QH. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric atrophy and intestinal metaplasia in patients with atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2086-2090 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2086.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2086>

摘要

目的: 探讨根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响。

方法: 选取2009-08/2009-12上海市第七人民医院392例萎缩性胃炎患者, 进行*H. pylori*检测及根除治疗后, 其中300例患者进行为期1年及3年的窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy, NBI-ME)和组织病理学结果随访。

结果: *H. pylori*根除成功患者第1年随访, 活动性及慢性炎症(胃窦部分别由 1.41 ± 0.64 降至 1.21 ± 0.65 , 1.83 ± 0.59 降至 1.43 ± 0.50 ; 胃体部分别由 1.36 ± 0.67 降至 1.18 ± 0.67 , 1.71 ± 0.46 降至 1.35 ± 0.48 , $P < 0.005$)均明显改善; 第3年随访, 活动性及慢性炎症(胃窦部分别由

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

1.51±0.62降至1.31±0.69, 1.97±0.60降至1.46±0.50; 胃体部分别由1.48±0.65降至1.26±0.69, 1.90±0.56降至1.46±0.50, $P<0.005$)均明显改善; 胃体部萎缩评分明显下降(第1年由1.54±0.65降至1.36±0.68, 第3年由1.68±0.65降至1.50±0.69, $P<0.005$). 胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生评分均无明显改变。

结论: 根除*H. pylori*能明显改善胃黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 根除; 萎缩性胃炎; 肠上皮化生

核心提示: 本研究使用窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy)提高肠上皮化生的检出率, 通过3年随访来对比根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化。研究提示, 根除*H. pylori*能明显改善胃黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩。

周颖, 周忠杰, 许琦华. 幽门螺杆菌根除对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2086-2090
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2086.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2086>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是人类最常见、感染率最高的慢性感染之一。*H. pylori*感染后胃癌发生遵循“*H. pylori*感染-慢性胃炎-胃黏膜萎缩-肠上皮化生-异型增生-肠型胃癌”的疾病模式已被普遍接受。萎缩性胃炎及胃黏膜肠上皮化生是该过程中的重要环节, 是公认的癌前状态^[1]。许多研究表明, 根除*H. pylori*能改善胃黏膜炎症、减少细胞增殖, 但根除*H. pylori*能否改善黏膜萎缩及肠上皮化生尚存在争论。本研究通过3年随访来对比根除*H. pylori*前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化, 结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 根据2006年中国慢性胃炎共识意见^[2]诊断标准, 连续纳入2009-08/2009-12上海市第七人民医院经胃镜和病理检查明确有胃窦或胃体黏膜萎缩患者392例, 所有患者经¹⁴C尿素呼气试验(¹⁴C-UBT)检查*H. pylori*感染情况。排除标准: 胃、十二指肠溃疡; 胃黏膜萎缩伴肠上皮化生

取自糜烂、溃疡灶者; 胃癌及胃手术史; 伴有出血性疾病、肝硬化、肾功能衰竭者; 入选前4 wk内服用过质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)、抑酸药或抗生素者; 长期服用非甾体类抗炎药者; 萎缩伴有上皮内瘤变者。本研究方案通过上海市第七人民医院伦理委员会审批, 所有患者受检前签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 内镜诊断: 采用Olympus GIF-Q260Z放大内镜、CV-260SL电子处理器和CLV-260SL内镜灯光明照系统行胃镜随访检查。检查当天患者空腹, 检查前口服利多卡因胶浆, 所有内镜操作均由同一内镜医师完成。对内镜下胃窦及胃体显示的灰色结节型、弥漫型或鱼鳞型可疑肠上皮化生区域、窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy, NBI-ME)浅蓝色锯齿状结构(light blue crest, LBC)下活检取材2-4块。**1.2.2 组织病理学检查:** 活检标本甲醛固定, 常规脱水、石蜡包埋, 行HE染色, 由不知内镜检查结果的同一病理医师行病理诊断。诊断标准按2006年中国慢性胃炎共识意见制定的病理诊断和分类方法。胃体及胃窦部标本分别进行诊断, 慢性炎症、活动性、萎缩和肠上皮化生按无、轻、中、重分别计分为0、1、2、3分。若活检组织萎缩及肠上皮化生程度不同, 则以重者作为该部位评分值。

1.2.3 *H. pylori*根除方法和随访: *H. pylori*根除方案为以质子泵抑制剂为主的三联疗法: 埃索美拉唑每次20 mg, 2次/d; 克拉霉素每次500 mg, 2次/d; 阿莫西林每次1.0 g, 2次/d; 或甲硝唑400 mg/次, 2次/d, 疗程10 d。治疗结束1 mo后进行¹⁴C-UBT评价*H. pylori*根除情况。分别于1年(入组后12-13 mo)、3年(入组后36-37 mo)随访复查, 胃镜检查依然在先前胃窦及胃体的相同部位取2-4块组织进行病理组织学检查, 同时行¹⁴C-UBT。

统计学处理 应用SPSS10.0统计软件。组织学评分结果以mean±SD表示, 组织学评分比较采用 t 检验; 计数资料的比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 392例患者, 第1年有300例完成随访, 其中224例入选时*H. pylori*阳性, 行*H. pylori*根除治疗后192例*H. pylori*阴性(*H. pylori*根除成功), 32例根除治疗失败呈持续*H. pylori*感染(*H.*

■ 研究前沿

目前关于根除*H. pylori*是否可改善甚至逆转胃黏膜萎缩及肠上皮化生尚无定论, 不同的研究结果存在较大分歧。可能与不同人种、病例数较少、取材部位不固定、肠化病变始于灶性分布且由点向面发展以及内镜医生对病变的认识水平的不同有一定关系。亟待制定统一随访方案以得到详实、确切的研究结果。

■相关报道

研究表明根除*H. pylori*能改善胃体部萎缩,但胃窦部萎缩无明显改善;也有研究指出根除*H. pylori*能减轻胃窦部萎缩。有研究表明,*H. pylori*根除后,胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生均无明显改善。相反的,也有研究指出,根除*H. pylori*能有效改善甚至逆转肠上皮化生。周丽雅等研究发现*H. pylori*感染持续存在时,明显增加胃体部黏膜萎缩发生率。

表 1 *H. pylori*根除治疗后第1年胃黏膜组织学评分

	<i>H. pylori</i> 阴性		<i>H. pylori</i> 根除成功		<i>H. pylori</i> 根除失败	
	入组时	1年	入组时	1年	入组时	1年
<i>n</i>	76	76	192	192	32	32
胃窦部						
炎症	1.62 ± 0.49	1.56 ± 0.50	1.83 ± 0.59	1.43 ± 0.50 ^a	1.79 ± 0.65	1.73 ± 0.50
活动性	1.05 ± 0.61	1.03 ± 0.71	1.41 ± 0.64	1.21 ± 0.65 ^a	1.42 ± 0.67	1.35 ± 0.70
萎缩	1.41 ± 0.57	1.39 ± 0.63	1.58 ± 0.57	1.47 ± 0.67	1.56 ± 0.57	1.57 ± 0.68
肠化	1.42 ± 0.37	1.37 ± 0.76	1.64 ± 0.54	1.52 ± 0.70	1.61 ± 0.53	1.66 ± 0.55
胃体部						
炎症	1.57 ± 0.50	1.50 ± 0.50	1.71 ± 0.46	1.35 ± 0.48 ^a	1.75 ± 0.67	1.65 ± 0.68
活动性	1.07 ± 0.70	1.04 ± 0.66	1.36 ± 0.67	1.18 ± 0.67 ^a	1.35 ± 0.68	1.39 ± 0.50
萎缩	1.45 ± 0.53	1.37 ± 0.65	1.54 ± 0.65	1.36 ± 0.68 ^a	1.56 ± 0.65	1.62 ± 0.57
肠化	1.15 ± 0.53	1.25 ± 0.71	1.36 ± 0.64	1.34 ± 0.68	1.41 ± 0.50	1.48 ± 0.67

^a*P* < 0.05 vs *H. pylori*根除成功入组时. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 2 *H. pylori*根除治疗后第3年胃黏膜组织学评分

	<i>H. pylori</i> 阴性(<i>n</i> = 54)		<i>H. pylori</i> 根除成功(<i>n</i> = 108)		<i>H. pylori</i> 根除失败(<i>n</i> = 28)	
	入组时	3年	入组时	3年	入组时	3年
<i>n</i>	54	54	108	108	28	28
胃窦部						
炎症	1.78 ± 0.42	1.67 ± 0.48	1.97 ± 0.60	1.46 ± 0.50 ^a	1.82 ± 0.62	1.78 ± 0.50
活动性	1.31 ± 0.61	1.43 ± 0.36	1.51 ± 0.62	1.31 ± 0.69 ^a	1.54 ± 0.65	1.60 ± 0.68
萎缩	1.50 ± 0.61	1.63 ± 0.39	1.72 ± 0.60	1.74 ± 0.59	1.71 ± 0.60	1.74 ± 0.59
肠化	1.39 ± 0.66	1.46 ± 0.56	1.73 ± 0.56	1.68 ± 0.62	1.81 ± 0.50	1.84 ± 0.61
胃体部						
炎症	1.70 ± 0.46	1.65 ± 0.48	1.90 ± 0.56	1.46 ± 0.50 ^a	1.92 ± 0.65	1.95 ± 0.66
活动性	1.28 ± 0.66	1.26 ± 0.38	1.48 ± 0.65	1.26 ± 0.69 ^a	1.58 ± 0.62	1.50 ± 0.50
萎缩	1.43 ± 0.29	1.48 ± 0.64	1.68 ± 0.65	1.50 ± 0.69 ^a	1.70 ± 0.69	1.74 ± 0.64
肠化	1.44 ± 0.44	1.41 ± 0.66	1.65 ± 0.65	1.65 ± 0.63	1.69 ± 0.65	1.68 ± 0.50

^a*P* < 0.05 vs *H. pylori*根除成功入组时. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

*pylori*根除失败). 第3年有190例完成随访, 其中136例入选时*H. pylori*阳性, *H. pylori*根除成功108例, *H. pylori*根除失败28例.

2.2 胃黏膜组织学改变 *H. pylori*根除成功患者第1及第3年随访, 胃窦及胃体慢性炎症、活动性均明显改善(*P* < 0.05), *H. pylori*阴性及*H. pylori*根除失败患者胃窦及胃体部慢性炎症及活动性无明显改变.

*H. pylori*根除成功患者第1及第3年随访, 胃体部萎缩评分明显下降(*P* < 0.05), 胃窦部萎缩评分未见明显改变.*H. pylori*; *H. pylori*阴性及*H. pylori*根除失败患者胃窦及胃体部萎缩评分均无明显改变.

*H. pylori*根除成功、*H. pylori*阴性及*H. pylori*根除失败患者胃窦及胃体部肠上皮化生评分均无明显改变.

*H. pylori*根除治疗后第1、3年胃黏膜组织学评分(表1, 2).

3 讨论

胃癌是严重危害人类健康最常见的恶性肿瘤之一. 流行病学证据表明, 人群感染*H. pylori*可能增加罹患胃癌的风险^[3,4]. 感染*H. pylori*后, 可引起胃黏膜长期慢性炎症反应, 产生氧自由基, 胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡程度也发生改变, 易引发腺体萎缩和肠上皮化生, 诱导DNA发生突

变, 最终发生癌变. *H. pylori*感染被认为是癌变的起始阶段, 发挥着启动因子的作用. 因此, 理论上, 根除*H. pylori*作为干预预防手段, 有可能阻断胃黏膜萎缩和肠上皮化生的进一步发展, 减少胃癌发生的危险性.

研究表明^[5-8], 根除*H. pylori*能改善胃体部萎缩, 但胃窦部萎缩无明显改善, 而国内外也有研究指出^[9,10]根除*H. pylori*能减轻胃窦部萎缩. 关于根除*H. pylori*是否可改善甚至逆转胃黏膜肠上皮化生尚无定论, 不同的研究结果存在较大分歧. 有研究表明^[10-13], *H. pylori*根除后, 胃窦及胃体部黏膜肠上皮化生均无明显改善. 相反的, 也有研究指出^[14-18], 根除*H. pylori*能有效改善甚至逆转肠上皮化生. 不同研究得出的不同结果, 可能与不同人种、病例数较少、取材部位不固定、肠化病变始于灶性分布且由点向面发展以及内镜医生对病变的认识水平不同有一定关系.

本研究在普通白光内镜检查的基础上使用NBI-ME提高肠上皮化生的检出率^[19], 减少取材部位不准确造成的试验数据误差. 研究结果显示, 在根除*H. pylori*后第1年及第3年随访提示胃窦及胃体部慢性炎症及活动性均明显减轻($P<0.05$), 说明根除*H. pylori*能有效治疗组织学炎症. 根除*H. pylori*成功患者第1年及第3年胃体部萎缩评分降低($P<0.05$), 但胃窦部萎缩未见明显改变, 胃体及胃窦部黏膜肠上皮化生评分未见明显改变, 考虑肠上皮化生的逆转常需很长时间, 延长随访时间是否会出现不同的结果, 尚需进一步的随访研究.

周丽雅等^[20]对121例根除*H. pylori*感染后一直未再发的患者和160例*H. pylori*持续感染患者进行了为期8年的随访观察, 研究发现*H. pylori*感染持续存在时, 明显增加胃体部黏膜萎缩发生率. 本研究中, *H. pylori*根除失败呈持续感染患者第1及第3年胃窦及胃体部慢性炎症、活动性、萎缩及肠上皮化生均无明显改变, 考虑可能与纳入患者例数较少, 且随访时间较短有关.

总之, *H. pylori*已被世界卫生组织定义为一类致癌因子, 但至今就根除*H. pylori*可预防胃癌发生这一结论还未达成共识. 作为一种无益的微生物定植于胃黏膜, *H. pylori*是胃炎、消化性溃疡的最主要致病因素. 根除*H. pylori*能明显改善黏膜炎症, 并且减轻胃体部黏膜萎缩, 如能在胃黏膜炎症阶段根除*H. pylori*则能使病变逆转, 因此对感染*H. pylori*者行根除治疗是必要的.

4 参考文献

- 1 Sipponen P. Gastric cancer: pathogenesis, risks, and prevention. *J Gastroenterol* 2002; 37 Suppl 13: 39-44 [PMID: 12109664 DOI: 10.1007/BF02990098]
- 2 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. *胃肠病学* 2006; 11: 674-683
- 3 Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 1998; 114: 1169-1179 [PMID: 9609753 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70422-6]
- 4 Eslick GD, Lim LL, Byles JE, Xia HH, Talley NJ. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric carcinoma: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2373-2379 [PMID: 10483994 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01360.x]
- 5 Kakkola A, Sipponen P, Rautelin H, Härkönen M, Kosunen TU, Haapiainen R, Puolakkainen P. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 515-520 [PMID: 11876705 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01214.x]
- 6 Yamada T, Miwa H, Fujino T, Hirai S, Yokoyama T, Sato N. Improvement of gastric atrophy after *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 405-410 [PMID: 12702982 DOI: 10.1097/00004836-200305000-00009]
- 7 Wang J, Xu L, Shi R, Huang X, Li SW, Huang Z, Zhang G. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Digestion* 2011; 83: 253-260 [PMID: 21282951 DOI: 10.1159/000280318]
- 8 Kang JM, Kim N, Shin CM, Lee HS, Lee DH, Jung HC, Song IS. Predictive factors for improvement of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: a three-year follow-up study in Korea. *Helicobacter* 2012; 17: 86-95 [PMID: 22404438 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00918.x]
- 9 陆一峰, 宓晓鸣, 戴晓波. 根治幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠上皮化生的影响. *苏州大学学报* 2010; 30: 851-852
- 10 Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G. The long-term impact of *Helicobacter pylori* eradication on gastric histology: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2007; 12 Suppl 2: 32-38 [PMID: 17991174 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00563.x]
- 11 Sung JJ, Lin SR, Ching JY, Zhou LY, To KF, Wang RT, Leung WK, Ng EK, Lau JY, Lee YT, Yeung CK, Chao W, Chung SC. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of *H. pylori* infection: a prospective, randomized study. *Gastroenterology* 2000; 119: 7-14 [PMID: 10889149 DOI: 10.1053/gast.2000.8550]
- 12 Annibale B, Di Giulio E, Caruana P, Lahner E, Capurso G, Bordi C, Delle Fave G. The long-term effects of cure of *Helicobacter pylori* infection on patients with atrophic body gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1723-1731 [PMID: 12269964 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01336.x]
- 13 Correa P, Piazuelo MB, Wilson KT. Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 493-498 [PMID: 20203636 DOI: 10.1038/ajg.2009.728]
- 14 Kim N, Lim SH, Lee KH, Choi SE, Jung HC, Song IS, Kim CY. Long-term effects of *Helicobacter py-*

■创新盘点

本研究在普通白光内镜检查的基础上使用窄带成像放大内镜(narrow band imaging-magnifying endoscopy)提高肠上皮化生的检出率, 减少取材部位不准确造成的试验数据误差. 通过3年随访来对比根除*H. pylori*前后不同部位胃黏膜萎缩及肠上皮化生程度的变化.

■同行评价

本文可读性较好,
具有一定指导意义。

- lori eradication on intestinal metaplasia in patients with duodenal and benign gastric ulcers. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1754-1762 [PMID: 11052316 DOI: 10.1023/A:1005534328511]
- 15 Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, Kumagai J, Tanizawa T, Eishi Y, Yokoyama T, Watanabe M. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom *Helicobacter pylori* was eradicated. *Ann Intern Med* 2001; 134: 380-386 [PMID: 11242498 DOI: 10.7326/0003-4819-134-5-200103060-00010]
- 16 Ito M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Kim S, Kitadai Y, Sumii M, Tanaka S, Yoshihara M, Chayama K. *Helicobacter pylori* eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year prospective study of patients with atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1449-1456 [PMID: 12182744 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01311.x]
- 17 吕宾, 王慧萍, 陈明涛, 范一宏, 孟立娜. 根除幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠化影响的随访研究. *中华内科杂志* 2004; 43: 299-301
- 18 王锐, 姜葵, 王邦茂, 章明放, 张彦敏. 根除幽门螺杆菌后胃黏膜肠上皮化生的变化. *天津医药* 2011; 39: 322-323
- 19 周颖, 周忠杰, 赵佳宏. 窄带成像放大内镜在胃黏膜肠上皮化生随访中的应用. *胃肠病学* 2012; 17: 36-38
- 20 周丽雅, 林三仁, 丁士刚, 黄雪彪, 郭长吉, 张莉, 崔荣丽, 金珠, 孟灵梅, 张静. 根除幽门螺杆菌对胃癌患病率及胃黏膜组织学变化的八年随访研究. *中华消化杂志* 2005; 25: 324-327

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定

张娜, 刘学芳, 李建国

张娜, 刘学芳, 李建国, 河南中医学院科研实验中心 河南省郑州市 450008

张娜, 讲师, 主要从事病毒学的相关研究。

河南中医学院“博士科研基金”资助项目, No. BSJJ2010-33
作者贡献分布: 此课题由张娜设计; 研究过程由张娜与刘学芳共同操作完成; 研究所用试剂及相关仪器由刘学芳提供; 图片分析由李建国完成; 本论文写作由张娜完成。

通讯作者: 张娜, 讲师, 450008, 河南省郑州市金水区金水路1号, 河南中医学院科研实验中心. nana821024@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-05-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-07-28

Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis

Na Zhang, Xue-Fang Liu, Jian-Guo Li

Na Zhang, Xue-Fang Liu, Jian-Guo Li, Scientific Research and Experimental Center, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Supported by: the Doctoral Research Fund of Henan Chinese Medicine, No. BSJJ2010-33

Correspondence to: Na Zhang, Lecturer, Scientific Research and Experimental Center, Henan University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Jinshui District, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. nana821024@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-07 Revised: 2013-05-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To develop a suitable proliferative cell culture system for chronic gastritis-related tiny virus, and to identify the type of this virus.

METHODS: The gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 was used to culture the tiny virus, and cells were observed by inverted microscopy and transmission electron microscopy (TEM). The primers for transfusion transmitted virus (TTV) and human parvovirus B19 were used to amplify DNA from the tiny virus.

RESULTS: After three blind passages in SGC-7901 cells, the tiny virus could proliferate *in vitro* and produce obvious CPE. TEM analysis showed that TTV was distributed in the nucleus and cytoplasm. The virions were globular, approximately 20 nm in size. PCR analysis showed

that the tiny virus specimens were TTV DNA amplification-positive.

CONCLUSION: SGC-7901 cells can be used as a proliferation system for tiny virus. The tiny virus and TTV virus belong to the same genus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Tiny virus; Gastric adenocarcinoma cells; Transfusion transmitted virus

Zhang N, Liu XF, Li JG. Culture and identification of TTV virus associated with human chronic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2091-2095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2091>

摘要

目的: 建立适合慢性胃炎相关微小病毒增殖的细胞培养体系, 并鉴定该病毒的类型。

方法: 制备人胃腺癌SGC-7901传代细胞, 对微小病毒进行传代培养, 并使用倒置显微镜和透射电镜观察; 使用输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)病毒、人细小病毒B19引物扩增微小病毒模板DNA。

结果: 盲传3代后, 微小病毒即可在SGC-7901细胞上传代增殖, 并产生明显的细胞病变; 透射电镜结果显示, 微小病毒在细胞核和胞质内均有分布, 病毒呈球形, 直径20 nm左右; PCR结果显示, 微小病毒标本显示为TTV病毒DNA阳性。

结论: SGC-7901细胞可以作为微小病毒体外增殖培养体系, 微小病毒属于TTV病毒科成员。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 微小病毒; 胃腺癌细胞; TTV病毒

核心提示: 本试验在慢性胃炎患者的组织标本中检测到输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)病毒核酸, 证实了TTV病毒可以在人胃黏膜

■背景资料

输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV), 1997年, 由日本学者首次报道, 认为是一种与输血后肝炎相关的病原, 现在世界范围内流行, 在健康人群中具有较高的感染率, 但发病率较低, 临床表现为非甲-庚型肝炎, 近期TTV病毒DNA也在胃炎患者的血清和粪便中相继检出, 证实其存在粪口传播的途径, 临床上表现与胃肠炎的相关性。

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■研发前沿

TTV病毒的感染与人类疾病的联系,一直是学者们争论的重点内容,尽管TTV病毒感染在肝病中的作用仍然存在争论,但是TTV病毒最早是一种新型肝炎病毒的候选病毒。自TTV在首次在各类肝炎患者中被确诊以来,之后在肝癌、传染性胃肠炎、女性生殖系统疾病、输血性传播疾病以及结肠癌等多种疾病患者中均检测到TTV病毒的高感染率,使其成为值得我们关注一种病原。

层细胞进行定植,使用人胃腺癌SGC-7901传代细胞成功增殖了该病毒,建立了该病毒的体外培养体系,使用电子显微镜技术在受感染细胞中成功观察到TTV子代病毒。

张娜, 刘学芳, 李建国. 人慢性胃炎相关TTV病毒的体外培养与鉴定. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2091-2095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2091.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2091>

0 引言

2008-07河南中医学院教授李建国等从慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎和胃腺癌患者胃黏膜上皮细胞中观察到一种微小病毒感染(暂名为微小病毒),初步研究显示,该病毒直径较小(22.18-22.63 nm),在细胞浆和细胞核内均可复制,形态学表现不同于人类非洲淋巴细胞瘤病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)以及人类免疫缺陷综合症病毒(human immunodeficiency virus, HIV)病毒^[1]。为了确定该病原,我们采用人细小病毒B19和输血传播病毒(transfusion transmitted virus, TTV)的引物进行检测,同时将病料同步接种于人胃腺癌细胞进行病毒培养,为进一步的研究提供病毒培养手段。

1 材料和方法

1.1 材料 微小病毒组织标本由河南中医学院病理实验中心在液氮中保存。人胃腺癌细胞SGC-7901,由河南中医学院细胞培养室液氮保存。细胞DNA抽提试剂盒购自百泰克;PCR反应试剂盒购自天根生物;MEM培养液购自GIBCO;胎牛血清购自民海血清;胰酶购自索来宝生物;引物合成由Invitrogen公司完成,引物序列如下:引物1(TTV病毒)上游引物: 5'-GCT ACG TCA CTA ACC ACG TG-3';下游引物: 5'-CTB CGG TGT GTAAAC TCA CC-3'^[2];引物2(人细小病毒B19)上游引物: 5'-ATA AAT CCA TAT ACT CAT T-3';下游引物: 5'-CTA AAG TAT CCT GAC CTT G-3'^[3]。

1.2 方法

1.2.1 样品制备: 用灭菌的磷酸盐缓冲液(PBS)分别将病料清洗干净,剪碎,按1:5(W/V)的比例加入pH 7.4的PBS进行研磨,充分混匀,反复冻融3次后,再加入青霉素1000 U/mL,链霉素1000 µg/mL。置4℃冰箱过夜,翌日5000 r/min离

心20 min,吸取上清液,无菌检验合格后,备用。

1.2.2 病毒接种与培养: 将长满单层传代细胞,用少量PBS液洗涤两次,取上述病料接种细胞,接毒量与维持液的比例为1:5-1:10,置37℃ 5%CO₂细胞培养箱中吸附1 h,再加入维持液(含2%犊牛血清的MEM营养液),同时设正常对照细胞。置37℃培养,逐日在镜下观察,若无细胞病变(cytopathic effect, CPE),培养5 d收获进行盲传,若出现细胞病变,当出现80%细胞病变时收获,连续传至第8代,同时设未接毒细胞作为对照^[4]。

1.2.3 透射电镜观察: 当CPE达80%时收集细胞毒,将细胞从细胞瓶中轻轻刮下,4℃ 3000 r/min离心10 min,取出细胞团,包埋于2%的低熔点琼脂糖内,按照文献方法进行电镜样品制备,步骤如下: (1)固定: 将细胞团浸入25 mL/L戊二醛溶液中,4℃固定2 h以上; (2)洗涤: 将细胞团取出使用磷酸盐缓冲液洗涤3次,每次15 min; (3)后固定: 将细胞团浸入20 mL/L锇酸溶液中,4℃固定2 h; (4)洗涤: 将细胞团取出使用磷酸盐缓冲液洗涤3次,每次15 min; (5)脱水: 依次使用30%丙酮、50%丙酮、70%(加醋酸铀)丙酮、80%丙酮对细胞样品脱水,每次5 min; (6)置换、浸透和包埋: 将细胞团包埋入环氧树脂中; (7)切片和染色: 细胞样品切片,厚度为80 nm左右,使用醋酸铀和柠檬酸铅双染。细胞样品制备完毕后,使用奥林巴斯透射电镜进行观察。

1.2.4 PCR鉴定: 取制备的病毒样品,按照DNA抽提试剂盒的步骤提取总DNA,分别使用2对引物进行PCR反应,反应体系为20 µL,其中含上、下游引物各0.2 µmol/L、DNA模板5 µL,PCR mix 10 µL,加水至20 µL,瞬时离心。引物1反应条件^[2]: 95℃预变性10 min、94℃变性20 s、60℃退火20 s、72℃延伸30 s,共55个循环,最后72℃延伸5 min。引物2反应条件^[3]: 95℃预变性10 min、94℃变性2 min、37℃退火2 min、72℃延伸3 min,共55个循环,最后72℃延伸5 min。配制1%琼脂糖凝胶,每孔加样5 µL,设定标准DNA Marker,100V电泳30-40 min,然后在凝胶成像系统中记录条带。

2 结果

2.1 病毒细胞培养结果 胃腺癌细胞首次接种病毒后,96 h内细胞病变不典型,仅出现细胞圆缩,折光性增强、悬浮细胞增多等变化,盲传3代后,细胞病变稳定,更加典型,接毒后24-48 h细

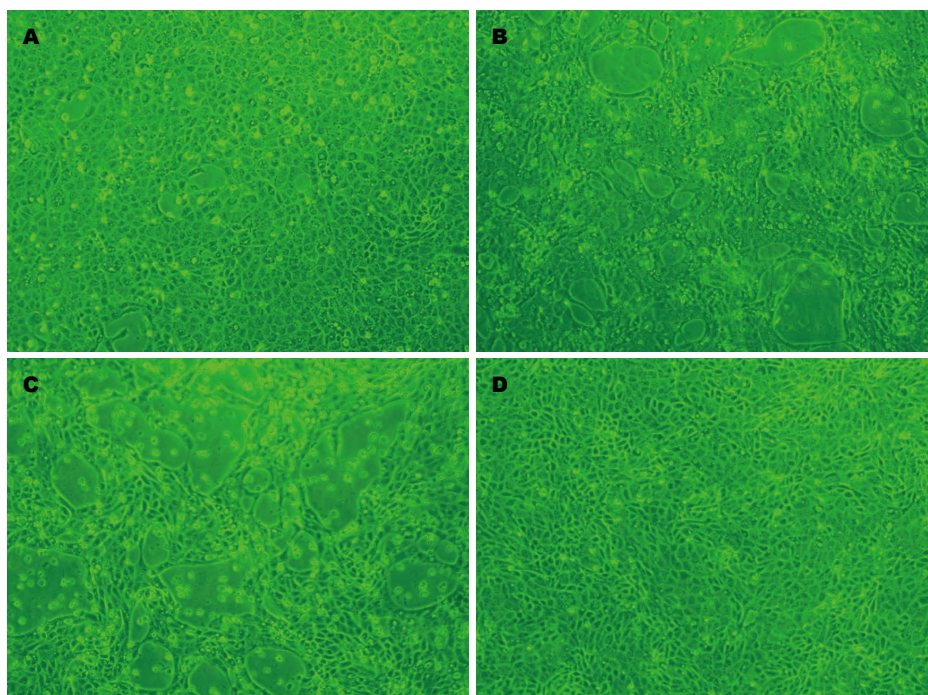


图1 胃腺癌细胞SGC-7901接毒后的形态学变化($\times 400$)。A: 接毒24-48 h的SGC-7901细胞, 细胞变圆、脱落、形成小噬斑; B: 接毒48-72 h的SGC-7901细胞, 脱落细胞数量明显增多, 形成较大噬斑; C: 接毒96 h的SGC-7901细胞, CPE比例高达80%以上; D: 96 h, 对照组SGC-7901细胞形态。

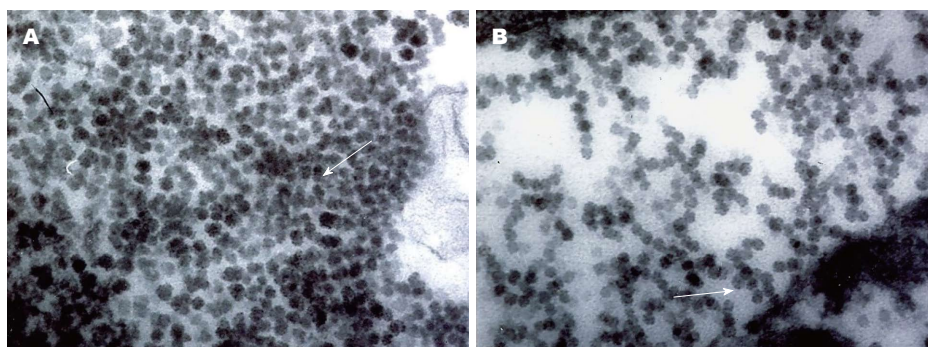


图2 微小病毒超微形态观察($\times 100000$)。A: 病毒粒子堆积分布在SGC-7901细胞的胞浆内(箭头); B: 病毒粒子在SGC-7901细胞的细胞核膜附近以串珠状形式进行出芽(箭头)。

胞出现变圆、皱缩、脱落、形成小噬斑(图1A); 48-72 h, 脱落细胞数量明显增多, 形成较大噬斑(图1B); 至96 h时细胞病变比例高达80%以上(图1C)。同时对照组细胞贴壁生长, 呈多边形外观, 细胞胞质清亮, 细胞界限明显, 培养96 h不出现细胞病变(图1D)。

2.2 透射电镜观察 在感染SGC-7901细胞的胞浆和细胞核均观察到大量新生的病毒粒子, 病毒呈现致密球形外观, 直径20 nm左右, 无囊膜, 在胞浆内呈聚集分布, 如图2A箭头所示; 病毒也在细胞核内复制, 并且以串珠状的形式向核外进行扩散, 如图2B左侧箭头所示。

2.3 PCR反应结果 如图3所示, 引物1扩增结果阳

性, 条带大小为198 bp, 与报道结果一致, 引物2扩增结果阴性, PCR检测结果显示微小病毒标本TTV病毒DNA检测阳性。

3 讨论

慢性胃炎是临床较为常见的一种消化系统疾病, 与消化性溃疡、胃癌和淋巴瘤等有密切的相关性, 根据病理表现又进一步分为慢性浅表性胃炎和慢性萎缩性胃炎。许多因素都与慢性胃炎有关, 如幽门螺杆菌菌感染^[5]、EB病毒感染^[6]、压力情绪、胆汁回流、酗酒甚至环境因素等。本次试验中检测的标本均为幽门螺杆菌、EB病毒感染阴性^[1]。

■ 相关报道

近期关于TTV病毒在胃肠炎患者体内分离的文献较多, 如2009年英国学者Braham等对胃肠炎患者的粪便样品进行病毒浓缩和纯化, 获得TTV病毒的全基因序列。2011年巴西学者Pinho-Nascimento对135名巴西胃肠炎患者的粪便样品进行TTV病毒DNA检测, 结果显示样品阳性率高达91.1%。本文参考相关文献, 设计了针对TTV病毒的特异性引物, 对慢性胃炎患者的组织标本检测, 结果呈阳性。

■创新盘点

本试验使用PCR检测法检测慢性胃炎患者的组织标本,结果显示TTV病毒核酸阳性,证实了TTV病毒在感染者胃黏膜组织内存在,此外,本试验采用病毒在人胃腺癌SGC-7901传代细胞上传代的方法,成功增殖了该病毒,获得了适应体外培养的毒株。

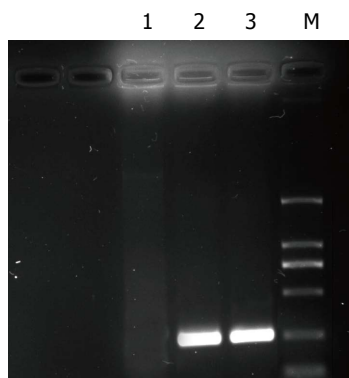


图3 引物扩增结果. 1: 阴性对照组; 2: 阳性对照组; 3: 微小病毒组; M: Marker I (100、200、300、400、500、600 bp)。

TTV是细颈圈病毒属(Anellovirus)主要成员之一^[7], 1997年首次报道于日本, 随后多个国家的学者在肝炎患者体内均分离出TTV病毒, 确定该病毒在世界范围内流行^[8,9]。TTV病毒是一种环状、单股、负链DNA病毒, 病毒基因组全长3739-3853 bp, 无囊膜, 氯化铯中的浮密度1.31-1.35 g/cm³, 病毒直径20 nm左右^[10], 与本试验中微小病毒大小基本一致。由于TTV病毒本身体积小, 在环境中的抵抗力强, 并且能够通过消化道传播, 具有在自然界中广泛存在, 流行无明显季节性的特点。在健康人群中具有较高的感染率, 但发病率较低, 临床表现为非甲-庚型肝炎^[11,12]。急性肝炎期, TTV弥漫分布于肝小叶内, 慢性肝炎则主要分布于汇管附近, 所以一般认为TTV为一种嗜肝病毒^[13]。我国学者骆抗先报道了一种新型肠传病毒性肝炎, 患者临床症状轻微, 病理学表现为肝脏汇管区炎症, 作者使用TTV病毒的引物成功检测到血清和粪便中的病毒核酸^[14]。2009年英国学者Braham等^[15]对胃肠炎患者的粪便样品进行病毒浓缩和纯化, 然后使用序列非依赖性单引物扩增法进行扩增, 结果显示通过基因移动(genome walking)的方法可以获得TTV病毒的全基因序列3260 bp。2011年巴西学者Pinho-Nascimento等^[16]对135例巴西胃肠炎患者的粪便样品进行TTV病毒DNA检测, 结果显示样品阳性率高达91.1%。多项实验结果显示TTV病毒可经粪-口途径进行传播, 本试验使用TTV病毒引物检测慢性浅表性胃炎患者的组织标本, PCR结果显示, 组织标本为TTV病毒DNA阳性, 证实了TTV病毒在人胃黏膜上皮细胞内存在, 并且在临床上表现出与慢性胃炎的相关性。

病毒的体外培养是研究病毒相关特性的基

础, 本次试验采用的是胃腺癌细胞进行病毒增殖, 盲传3代后, 并取得了良好的增殖效果。在前期试验过程中, 我们采用了人胃黏膜上皮细胞进行病毒增殖, 但效果不理想, TTV病毒表现出对人胃腺癌细胞的偏爱性。我们使用电镜观察的方法在F3代细胞毒中观察到了TTV病毒粒子, 说明此时的病毒已经适应在胃腺癌细胞中增殖, 此外, 我们对该病毒的病原特性实验、超微结构观察以及基因组分析等相关工作正在进行。

4 参考文献

- 1 李宁宁, 李建国, 徐玉芳, 李瑞琴. 慢性浅表性、萎缩性胃炎及胃腺癌中微小病毒的电镜技术、原位杂交法检测. 河南中医学院, 2008: 1-30
- 2 Abe K, Inami T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, Ishikawa Ki, Takebe Y, Win KM, El-Zayadi AR, Han KH, Zhang DY. TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2703-2705 [PMID: 10405426]
- 3 Koch WC, Adler SP. Detection of human parvovirus B19 DNA by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 65-69 [PMID: 2153700]
- 4 傅继华, 张静, 李文, 尹爱红, 黄涛, 王少军, 王玫, 王晓云, 赵明远, 康殿民. 病毒学实用实验技术. 第1版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 50-80
- 5 Enomoto S, Oka M, Ohata H, Mukoubayashi C, Watanabe M, Moribata K, Muraki Y, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Yanaoka K, Tamai H, Fujishiro M, Mohara O, Ichinose M. Assessment of gastroesophageal reflux disease by serodiagnosis of Helicobacter pylori-related chronic gastritis stage. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 71-77 [PMID: 21603035 DOI: 10.4253/wjge.v3.i4.71]
- 6 Hisamatsu A, Nagai T, Okawara H, Nakashima H, Tasaki T, Nakagawa Y, Hashinaga M, Kai S, Yokoyama S, Murakami K, Fujioka T. Gastritis associated with Epstein-Barr virus infection. *Intern Med* 2010; 49: 2101-2105 [PMID: 20930436 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.3789]
- 7 Biagini P. Classification of TTV and related viruses (anelloviruses). *Curr Top Microbiol Immunol* 2009; 331: 21-33 [PMID: 19230555 DOI: 10.1007/978-3-540-70972-5_2]
- 8 Hino S, Miyata H. Torque teno virus (TTV): current status. *Rev Med Virol* 2007; 17: 45-57 [PMID: 17146841 DOI: 10.1002/rmv.524]
- 9 Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 92-97 [PMID: 9405239 DOI: 10.1006/bbrc.1997.7765]
- 10 Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer LG, Chalmers ML, Pilot-Matias TJ, Dexai SM. Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3177-3182 [PMID: 10077657 DOI: 10.1073/pnas.96.6.3177]
- 11 Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsu-

- da F, Miyakawa Y, Mayumi M. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56: 128-132 [PMID: 9746068 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9071(199810)56:2<128::AID-JMV5>3.0.CO;2-A]
- 12 Asim M, Singla R, Gupta RK, Kar P. Clinical & molecular characterization of human TT virus in different liver diseases. *Indian J Med Res* 2010; 131: 545-554 [PMID: 20424306]
- 13 杭双荣, 王永忠, 陈敏, 沈翔科. 苏南地区TTV DNA病毒的临床观察. *放射免疫学杂志* 2006; 19: 440-441
- 14 骆抗先, 章廉, 王珊珊, 聂军, 葛娅, 陈志英, 俞守义, 刘银燕, 杨守昌, 梁蔚芳, 何海棠, 焦成松. 一种新型肠传染性病毒性肝炎的流行病学、临床、病理和病毒学的初步研究. *第一军医大学学报* 1998; 18: 87-90
- 15 Braham S, Iturriza-Gómara M, Gray J. Detection of TT virus by single-primer sequence-independent amplification in multiple samples collected from an outbreak of gastroenteritis. *Arch Virol* 2009; 154: 981-985 [PMID: 19407928 DOI: 10.1007/s00705-009-0387-8]
- 16 Pinho-Nascimento CA, Leite JP, Niel C, Diniz-Mendes L. Torque teno virus in fecal samples of patients with gastroenteritis: prevalence, genogroups distribution, and viral load. *J Med Virol* 2011; 83: 1107-1111 [PMID: 21503927 DOI: 10.1002/jmv.22024]

■同行评价

本文整体阐述条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论. 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •**《世界华人消化杂志》栏目设置**

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

急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效

黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳

■背景资料

急性非静脉曲张性上消化道出血发生、发展较快, 临床病死率较高。随着研究的深入, 临床发现传统保守治疗效果较差, 而且对于出血量较多的患者, 往往起不到有效作用。随着胃镜技术的发展, 目前止血多采用去甲肾上腺素喷洒。虽然与以往的止血药静脉注射比较, 其止血效率有了一定的提高, 但是与预期的效果相比, 还是存在一定的差距。

黄妍, 曾昆, 肖政, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区急诊内科 湖北省武汉市 430034

陈艳, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区消化内科 湖北省武汉市 430034

黄妍, 主治医师, 主要从事内科急症的临床工作。

作者贡献分布: 本文由黄妍、曾昆、肖政及陈艳共同完成。

通讯作者: 黄妍, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路, 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区急诊内科。

riverhuangyan@hotmail.com

收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-04

接受日期: 2013-07-05 在线出版日期: 2013-07-28

Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding

Yan Huang, Kun Zeng, Zheng Xiao, Yan Chen

Yan Huang, Kun Zeng, Zheng Xiao, Department of Emergency Medicine, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Yan Chen, Department of Gastroenterology, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Yan Huang, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Puai Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Gutian San Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. riverhuangyan@hotmail.com

Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-04

Accepted: 2013-07-05 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of emergency endoscopic drug spraying versus injection in the treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding (ANVUGIB).

METHODS: Clinical data for ANVUGIB patients treated at our hospital from January 2010 to January 2013 were retrospectively analyzed. These patients were randomly and equally divided into two groups: a control group and an observation group. The observation group underwent emergency endoscopic injection of adrenalin,

while the control group underwent emergency endoscopic spraying of adrenalin. The hemostatic effect and side effects were compared between the two groups.

RESULTS: The total hemostasis rate was significantly higher in the observation group than in the control group (88.0% vs 78.0%, $P < 0.05$). The rate of adverse reactions was significantly lower in the observation group than in the control group (9.0% vs 32.0%, $P < 0.05$). Compared with pre-treatment values, hemoglobin levels rose in both groups, and the rise was more significant in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Emergency endoscopic injection of adrenalin is associated with a better hemostatic effect and fewer side effects in the treatment of ANVUGIB.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Emergency endoscopy; Drug spraying; Drug injected; Acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding

Huang Y, Zeng K, Xiao Z, Chen Y. Efficacy of emergency endoscopic drug spraying vs injection in treatment of non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2096-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2096.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2096>

摘要

目的: 观察急诊胃镜下药物喷洒与药物注射两种不同方法在急性非静脉曲张性上消化道出血(acute non-variceal upper gastro intestinal bleeding, ANVUGIB)中的作用以及临床疗效。

方法: 2010-01/2013-01华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区收治入院的ANVUGIB患者200例进行分组研究, 予以不同的治疗方式, 其中观察组100例, 采取急诊胃镜下病灶处肾上腺素注射治疗; 对照组100例, 采用急诊胃

■同行评议者

阴赅宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学; 张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

镜下病灶处去甲肾上腺素喷洒治疗. 观察两组药物的临床止血作用, 并详细记录止血的时间以及不良反应等观察指标.

结果: 观察组止血总有效率为88.0%, 显著高于对照组的78.0% ($P < 0.05$). 此外, 观察组治疗期间不良反应比例为9.0%, 亦低于对照组的32.0% ($P < 0.05$). 与治疗前相比, 两组患者血红蛋白水平均有一定程度的上升, 其中以观察组上升更为显著, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$).

结论: 急诊胃镜下注射肾上腺素治疗ANVUGIB疗效确切, 止血效果好, 不良反应少, 值得临床推广.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 急诊胃镜; 药物喷洒; 药物注射; 非静脉曲张性上消化道出血

核心提示: 本研究对经急诊胃镜下药物喷洒及药物注射两组不同治疗方案进行了临床观察. 发现经急诊胃镜下肾上腺素止血总有效率达到88.0%, 较对照组的78.0%有了明显的上升. 此外, 就平均止血时间而言, 内镜下止血亦能起到缩短止血时间的效果.

黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳. 急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2096-2099 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2096>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2096>

0 引言

急性非静脉曲张性上消化道出血(acute non-variceal upper gastro intestinal bleeding, ANVUGIB)是急诊科及消化科日常工作中较常见到的一类急性消化系统疾病, 其中呕血、便血是本病的主要临床特征^[1]. 本病的发生、发展较快, 临床病死率较高. 药物静脉止血是临床较为常用的止血方法之一, 用于出血不大, 尚不需要物理止血或手术止血的患者. 但随着研究的深入, 临床发现传统保守治疗效果较差, 而且对于出血量较多的患者, 往往起不到有效作用^[2,3]. 随着胃镜技术的发展, 目前已有直接胃镜下止血的报道, 止血多采用去甲肾上腺素喷洒^[4]. 虽然与以往的止血药静脉注射比较, 其止血效率有了一定的提高, 但是与预期的效果相比, 还是存在一定的差距. 华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区对200例ANVUGIB患者, 采用急诊胃镜下肾

上腺素注射进行临床治疗, 发现药物注射的止血效果明显优于药物喷洒, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-01于华中科技大学附属武汉市普爱医院西院区行急诊内镜检查, 确诊为ANVUGIB的患者200例. 对200例ANVUGIB分为观察组及对照组各100例, 对照组采用急诊胃镜下病灶处去甲肾上腺素喷洒治疗; 观察组采用急诊胃镜下病灶处肾上腺素注射治疗. 对患者的一般资料进行统计, 对照组男61例、女39例, 年龄29-63岁, 平均年龄43.2岁 ± 12.1岁. 观察组男59例、女41例, 年龄31-66岁, 平均年龄42.9岁 ± 12.3岁. 对两组患者的年龄、性别等临床资料进行对比, 发现差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者入院后均禁食, 并给予适当的营养进行静脉补充. (1)对照组: 患者入院后即给予40 mg奥美拉唑加入100 mL生理盐水中进行静脉滴注. 同时, 进行急诊胃镜下去甲肾上腺素喷洒. 治疗前, 将去甲肾上腺素配置成8.00%去甲肾上腺素溶液. 对出血病灶进行喷洒, 最大剂量不超过40 mL; (2)观察组: 患者入院后即给予40 mg奥美拉唑加入100 mL生理盐水中进行静脉滴注. 同时, 进行急诊胃镜下用注射针注射肾上腺素. 治疗前, 将肾上腺素配置成1:10000的肾上腺素溶液. 注射前, 先使用金属钛夹夹住裸露的大血管进行止血. 对于小血管引发的出血, 在病灶周围1-3 mm处进行肾上腺素的分点注射, 每个位置剂量约为1-2 mL左右, 直至病灶处无活动性出血为止, 注射总剂量不超过10 mL.

1.2.2 疗效标准: 根据临床疗效可分为显效、有效以及无效. 患者呕血或便血症状消失, 大便隐血转阴, 血常规示血红蛋白未再有进行性下降, 则临床提示消化道出血已经停止. 如患者24 h内止血, 为显效; 如24-72 h内止血, 为有效; 如>72 h仍未见明显止血倾向, 为无效.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 计量资料以mean ± SD表示, 均数比较采用 t 检验、方差因素分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者药物止血情况比较 观察组在治疗

■ 研发前沿

临床研究证明, 去甲肾上腺素对于小血管、微小血管等引发的出血、渗血等具有较强的止血作用. 但对于消化系溃疡等一些出血较多的患者, 去甲肾上腺素的止血作用甚微. 即使能够起到止血的效果, 但是再出血的几率明显提升.

■ 相关报道

研究报道, 对于因大血管出血, 常规药物无法起到短时间内完全止血效果的, 金属钛夹提供了一种新型的治疗方案.

■应用要点

胃镜下注射肾上腺素治疗急性非静脉曲张性上消化道出血疗效确切,能够有效提高止血有效率,缩短止血时间,降低治疗期间各类不良反应的发生,值得在临床上应用与进一步研究。

表 1 两组患者药物止血情况比较 ($n = 100$, mean \pm SD)

分组	24 h	48 h	72 h	治疗无效	平均止血时间(h)	总有效率(%)
观察组	41 ^a	29	18	12	22.7 \pm 7.6 ^a	88.0 ^a
对照组	28	22	28	22	30.1 \pm 9.7	78.0

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 2 两组患者不良反应比较 (n)

分组	不良反应	n	比例(%)	不良反应率(%)
对照组				32.0
	腹部不适	8	8.0	
	闷气	3	3.0	
	大便频繁	17	17.0	
	血压不稳	4	4.0	
观察组	腹部不适	9	9.0	9.0 ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 3 两组患者治疗前后Hb水平比较 ($n = 100$, mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗后
观察组	85.2 \pm 20.1	106.9 \pm 15.5 ^{ac}
对照组	85.9 \pm 19.9	96.5 \pm 14.6 ^a

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。Hb: 血红蛋白。

后,患者24、48 h的止血率明显高于对照组,且平均止血时间,观察组亦明显短于对照组。两组比较差异有统计学差异($P < 0.05$)(表1)。

2.2 两组患者不良反应比较 观察组治疗期间发生不良反应的比例为8.33%,较对照组的30.0%,有明显的下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患者治疗前后血红蛋白水平比较 两组患者经治疗后,血红蛋白水平均较治疗前有明显的上升,两组治疗后比较,以观察组上升更为明显,差异有统计学差异($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

ANVUGIB的病因较多,临床上较为常见的病因有肿瘤、消化系溃疡等,特别肿瘤引起的消化系大出血,约占出血的50%^[5]。胃镜下止血由于能够对出血病灶进行直接处理,因此,逐渐被各级医疗机构采用。去甲肾上腺素是胃镜下最常用的止血药物,研究表明^[6],其具有很强的收缩血管的能力,因此能够在短时间内起到止血

的目的。但是,临床研究亦证明^[7],去甲肾上腺素对于小血管、微小血管等引发的出血、渗血等具有较强的止血作用。但对于消化系溃疡等一些出血较多的患者,去甲肾上腺素的止血作用甚微。即使能够起到止血的效果,但是再出血的几率明显提升。与去甲肾上腺素喷洒不同,肾上腺素注射后可以使得出血病灶周围的血管发生痉挛,同时加强血小板凝集^[8,9]。因此,在药物注射后可以有助于出血血管的血栓形成^[10]。此外,药物注射后,会引发病灶周围组织等出现一定的肿胀,而这些肿胀能够起到压迫血管的作用,进一步起到止血的疗效^[11]。目前的研究认为^[12],胃酸在ANVUGIB过程中扮演了一个重要的角色,而抑制胃酸的分泌能够有效起到止血的效果。其机制在于当胃酸分泌过多时,pH值下降,血凝块能够被胃酸消化,从而不能起到止血的效果。而当pH>6.0时,血小板聚集才能起到止血的效果。但目前临床治疗而言,药物治疗往往存在止血时间长,疗效不佳等缺点。特别在一些危重患者方面,如不进行积极抢救,严重时可以导致患者出现生命危险。而奥美拉唑有较强的抑酸护胃作用,能够起到一定的调节pH效果。

胃镜下止血是当前临床上使用较多的新型止血方案,其可以对病灶直接干预,因此止血时间短,疗效优。在我院对ANVUGIB患者的临床治疗中,特别使用了金属钛夹,因为其能够直接夹闭出现破裂的血管,因此可以立即起到止血

的效果. 有研究显示^[13], 金属钛夹对<3 mm直径的血管破裂出血及局灶性出血效果最优. 研究认为^[14], 金属钛夹通过较强的物理作用力将病灶以及周围组织紧箍, 起到夹闭血管止血的作用. 而且, 一旦当病灶愈合, 金属钛夹可以自行脱离, 并随粪便排出. 因此, 对于因大血管出血, 常规药物无法起到短时间内完全止血效果的, 金属钛夹提供了一种新型的治疗方案^[15].

本研究对经急诊胃镜下药物喷洒及药物注射两组不同治疗方案进行了临床观察. 可以发现, 经急诊胃镜下肾上腺素止血总有效率达到了88.0%, 较对照组的78.0%有了明显的上升. 此外, 就平均止血时间而言, 内镜下止血亦能起到缩短止血时间的效果. 此外, 我们对两组患者治疗期间相关不良反应情况进行了临床观察. 结果发现观察组患者治疗不良反应为9.0%, 较对照组的32.0%有了较为明显的下降. 说明胃镜下进行肾上腺素注射止血, 不但能够提高治疗的有效率, 还能一定程度上减少各类不良反应的发生. 其机制可能在于内镜下止血, 术后各类止血药物服用较少, 从而避免此类药物相关不良反应的出现. 另外, 我们对两组患者治疗前后的血红蛋白水平进行了观察. 由于出血, 两组患者治疗前血红蛋白水平均较正常水平明显的下降. 经过治疗, 两组患者血红蛋白水平均出现一定程度的上升. 说明两组治疗方案均有一定的提高血红蛋白的能力. 但通过对比两组治疗后的血红蛋白水平, 可以发现, 观察组上升的程度是明显优于对照组的. 另一方面说明其止血的效果是优于对照组的, 能够在操作后有效减少渗血的可能.

总之, 胃镜下注射肾上腺素治疗ANVUGIB疗效确切, 能够有效提高止血有效率, 缩短止血时间, 降低治疗期间各类不良反应的发生, 值得临床的应用与进一步研究.

4 参考文献

- 辛磊, 彭国林, 廖专, 胡良峰, 常雪娇, 朱明华, 郑建明, 潘春树, 沈茜, 李兆申. 大剂量质子泵抑制剂治疗消化性溃疡出血的研究进展. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 478-480
- 张静, 张佳莹, 丁士刚, 王晔, 周丽雅. 内镜止血在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗中的临床价值. 北京大学学报(医学版) 2012; 44: 582-587
- 原强, 白旭明, 程龙, 顾星石, 靳勇. 生物蛋白胶栓塞治疗门脉高压性上消化道出血30例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3397-3402
- Targownik LE, Murthy S, Keyvani L, Leeson S. The role of rapid endoscopy for high-risk patients with acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Can J Gastroenterol* 2007; 21: 425-429 [PMID: 17637943]
- 饶正伟, 冯轶, 冯刚, 刘蓉, 何瑛, 方传达. 氩离子凝固术联合药物治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的疗效及安全性研究. 中国全科医学 2011; 14: 3468-3470
- 阮国永, 史薇, 姜英杰, 梁爱霞, 邱桂梅. 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜止血成功后再出血的危险因素分析. 现代消化及介入诊疗 2012; 17: 323-326
- 索宝军, 周丽雅, 丁士刚, 郭长吉, 顾芳, 郑亚安. 急性消化道出血的病因及其相关因素分析. 中华医学杂志 2011; 91: 1757-1761
- 杨欣艳, 李京雨, 刘涛, 赵晓军, 李娜, 左富义, 李恕军, 盛剑秋. 急性非静脉曲张性上消化道出血临床分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 727-729
- Targownik LE, Nabalamba A. Trends in management and outcomes of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: 1993-2003. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1459-1466 [PMID: 17101296]
- 孙富强, 张鸿欣, 李娜, 陈鑫, 张恩杰. 急诊胃镜检查诊治上消化道出血临床研究. 武警后勤学院学报(医学版) 2012; 21: 103-105
- 《中华内科杂志》编委会, 《中华消化杂志》编委会, 《中华消化内镜杂志》编委会. 急性非静脉曲张性上消化道出血诊治指南(2009, 杭州). 中华消化杂志 2009; 29: 682-686
- 雷天霞, 史美娜, 雷晓毅, 徐桂华, 黄玉林. 老年上消化道出血210例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3164-3166
- Holster IL, Kuipers EJ. Management of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: current policies and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1202-1207 [PMID: 22468083 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1202]
- 张文礼. 胃镜下注射肾上腺素联合钛夹治疗急性非静脉曲张性上消化道出血. 中国基层医药 2010; 17: 2020-2021
- Yang JY, Lee TC, Montez-Rath ME, Paik J, Chertow GM, Desai M, Winkelmayer WC. Trends in acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 495-506 [PMID: 22266666 DOI: 10.1681/ASN.2011070658]

■同行评价

本文针对急性非静脉曲张性上消化道出血患者进行回顾性分组研究, 发现急诊胃镜下注射肾上腺素疗效确切, 值得临床推广, 具有一定的临床实用价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲

■背景资料

胃镜检查术时间多在10 min以内, 异丙酚起效快, 清除快, 适用于胃镜检查术。异丙酚用于胃镜检查术时用量大, 患者苏醒时间长。由于异丙酚镇痛作用弱, 术中患者体动发生率高, 不仅严重影响手术质量, 还可能导致消化道黏膜出血或胃穿孔等并发症的发生。瑞芬芬太尼起效快, 清除快, 镇痛作用较强, 用于胃镜检查术是可行的, 但其对呼吸和循环系统的抑制作用呈剂量依赖性。

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲, 河南省中医院麻醉科 河南省郑州市 450002

赵峰, 主治医师, 主要从事临床麻醉学的研究。

作者贡献分布: 本文研究设计由赵峰完成; 手术中麻醉由庞留成完成; 赵彦芬、张振华及毛轲共同参与本研究。

通讯作者: 赵峰, 主治医师, 450002, 河南省郑州市东风路6号, 河南省中医院麻醉科。q25789611@163.com

收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-06-26

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao

Feng Zhao, Liu-Cheng Pang, Yan-Fen Zhao, Zhen-Hua Zhang, Ke Mao, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan Province, China
Correspondence to: Feng Zhao, Attending doctor, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 6 Dongfeng Road, Zhengzhou 450002, He'nan Province, China. q25789611@163.com

Received: 2013-05-13 Revised: 2013-06-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical efficacy and safety of use of propofol and fentanyl in painless gastroscopy.

METHODS: One hundred and sixty patients who underwent painless gastroscopy were randomly and equally divided into either a control group or an observation group. The control group was intravenously injected with midazolam (0.05 mg/kg) and propofol (2.5 mg/kg), while the observation group received fentanyl (1 µg/kg) and propofol (2.5 mg/kg). Mean arterial pressure (MAP), venous oxygen saturation (SPO₂) and heart rate (HR) were compared between the two groups.

RESULTS: The rate of excellent analgesic effect was higher in the observation group than in the control group (100% vs 92.5%, $Z = 2.14$, $P = 0.03$). MAP, SPO₂ and HR declined significantly after treatment in both groups compared to pre-treatment values (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy is safe and effective and can alleviate the suffering of patients effectively.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fentanyl; Propofol; Painless gastroscopy; Midazolam

Zhao F, Pang LC, Zhao YF, Zhang ZH, Mao K. Application of fentanyl and propofol in painless gastroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2100-2103 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2100.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2100>

摘要

目的: 探讨芬太尼和异丙酚在无痛胃镜中的麻醉镇痛效果和安全性。

方法: 将进行无痛胃镜检查的患者随机分为对照组和观察组各80例, 对照组患者先经静脉注入芬太尼1 µg/kg, 随后缓慢推注异丙酚2.5 mg/kg; 治疗组先静脉推注咪唑安定0.05 mg/kg, 再缓慢注入异丙酚2.5 mg/kg, 患者意识和睫毛反射消失后开始检查。比较两组的镇痛效果和检查前、中、后平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(venous oxygen saturation, SPO₂)和心率(heart rate, HR)的变化。

结果: 观察组麻醉镇痛效果的优良率为100%, 明显高于对照组($Z = 2.14$, $P = 0.03$)的92.5%, 麻醉后两组患者术中的MAP、HR和SPO₂与术前相比均有所下降, 观察组术后恢复情况较好, 其中HR和SPO₂与对照组有极显著差异($P > 0.01$)。

结论: 应用芬太尼和异丙酚进行无痛胃镜检查安全有效, 可有效减轻患者痛苦。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 芬太尼; 异丙酚; 无痛胃镜; 咪唑安定

核心提示: 单纯使用异丙酚对无痛胃镜检查术患

■同行评议者

钱林学, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

者呼吸循环影响大, 胃镜刺激引起的咽部反应和肢体活动多见, 镇静作用维持时间短, 遗忘效果不完善, 常需与其他麻醉镇痛药物联合使用以降低不良反应. 本文对芬太尼和异丙酚在无痛胃镜麻醉中联用进行了临床观察, 为临床应用提供了参考.

赵峰, 庞留成, 赵彦芬, 张振华, 毛轲. 异丙酚联合芬太尼在无痛胃镜麻醉中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2100-2103
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2100.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2100>

0 引言

胃镜作为消化系统疾病的辅助检查手段应用广泛, 但检查时患者常有咽部不适、恶心、咳嗽等不良反应, 使得一些患者术前常感焦虑不安, 甚至拒绝检查而延误病情诊断. 因此, 选择良好的麻醉方法可以消除患者胃镜检查过程中的痛苦, 使患者可以在无痛状态下完成^[1]. 异丙酚以其麻醉效果好、恢复迅速、体内无蓄积的特点, 已在各医院麻醉科广泛使用, 单纯使用异丙酚对无痛胃镜检查患者呼吸循环影响大, 胃镜刺激引起的咽部反应和肢体活动多见, 镇静作用维持时间短, 遗忘效果不完善, 常需与其他麻醉镇痛药物联合使用以降低不良反应^[2]. 本文对芬太尼和异丙酚在无痛胃镜麻醉中联用进行了临床观察, 为临床应用提供参考文献.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-06/2012-06在本院进行无痛胃镜检查的患者160例, 均为ASA分级 I - II 级, 采用双盲随机试验, 使用随机数字表法将入选患者分为对照组80例和观察组80例. 其中, 对照组患者年龄31-69岁, 平均年龄45.2岁±9.8岁, 男52例, 女28例, 初次胃镜检查者62例, 再次检查者18例; 观察组患者年龄34-71岁, 平均年龄47.2岁±10.6岁, 男49例, 女31例, 初次胃镜检查者57例, 再次检查者23例; 两组患者均排除麻醉药物过敏史和麻醉禁忌症, 患者年龄、性别、体质量等差异无统计学意义($P>0.05$), 有可比性. 所有患者于术前签署肠镜及经静脉药物麻醉知情同意.

1.2 方法

1.2.1 手术: 观察组患者先建立静脉通路, 经静脉注入芬太尼1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 随后缓慢推注异丙酚2.5 mg/kg , 患者意识和睫毛反射消失后开始检查;

表 1 镇痛效果对比 (mean ± SD)

分组	镇痛效果n(%)			优良率(%)
	优	良	差	
观察组	72(90.0)	8(10.0)	0(0)	100
对照组	57(71.25)	17(21.25)	6(7.5)	92.5

治疗组患者先静脉推注咪唑安定0.05 mg/kg , 再缓慢注入异丙酚2.5 mg/kg ; 于术前、静注异丙酚2 min后(术中)和术后监测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、静脉血氧饱和度(venous oxygen saturation, SPO_2)和心率(heart rate, HR)的变化, 并与麻醉前相比较, 记录不良反应.

1.2.2 疗效评定标准: 两组患者的镇痛效果评分为: 优, 表情安静, 患者无肢体活动, VAS视觉模拟评分<1分; 良, 表情稍痛苦, 肢体活动幅度较小, 患者较安静, VAS视觉模拟评分1-5分; 差, 表情痛苦、焦虑, 肢体活动幅度大, VAS视觉模拟评分>5分, 检查无法进行. 优+良均计入优良率^[2].

统计学处理 数据采用SPSS13.0统计学软件进行处理. 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用独立样本t检验, 等级资料采用Ridit分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

观察组镇痛效果评分为优的患者72例, 良8例, 总优良率100%; 对照组优良率为92.5%, 评分差6例, 其中体动2例, 头晕1例, 呛咳3例. 观察组镇痛效果评分明显高于对照组, 差异有统计学意义($Z = 2.14, P = 0.03$, 表1).

麻醉后两组患者MAP、HR和 SPO_2 与术前相比均有所下降, 术后均恢复正常. 观察组术后恢复情况较好, 其中HR和 SPO_2 与对照组有极显著差异($P>0.01$), 表明观察组药物对患者血压和呼吸系统的抑制较小(表2, 3).

3 讨论

常规胃镜检查时患者需忍受插镜引起的咽部不适、恶心、呕吐等痛苦, 极大地影响了诊疗质量^[3]; 无痛胃镜检查使用镇静剂使患者于浅睡眠状态下完成检查, 整个过程患者痛苦较少, 有效降低了患者的应激反应, 稳定机体血液动力学状态, 降低了危险性, 扩大了胃镜诊疗范围, 避免胃穿孔以及减少心理阴影^[4].

异丙酚是一种非巴比妥类短效静脉麻醉药, 具有起效迅速、苏醒快等优点, 特别适合胃

■研发前沿
胃镜检查患者芬太尼复合异丙酚麻醉的效果较好, 但是芬太尼的适宜剂量有待进一步探讨.

■相关报道
徐志勇等的随机、双盲、多中心研究结果表明, 联用芬太尼, 与单用异丙酚组比较, 同样显示出较好的麻醉效果.

■应用要点

芬太尼和异丙酚联用进行无痛胃镜检查减轻了患者的生理不适和痛苦,避免了心血管呼吸骤停等意外,能提高诊疗准确性,增加复查率,给胃镜检查带来了方便,是有效、安全的检查方法。

表 2 两组患者术前、中和后平均动脉压和静脉血氧饱和度的变化 ($n = 80$, mean \pm SD)

分组	平均动脉压(mmHg)			静脉血氧饱和度(%)		
	术前	术中	术后	术前	术中	术后
对照组	85.3 \pm 12.5	81.7 \pm 14.6	82.1 \pm 10.5	98.5 \pm 2.2	95.7 \pm 3.2	96.2 \pm 2.2
观察组	86.1 \pm 13.1	80.4 \pm 13.5	85.2 \pm 13.8 ^b	98.2 \pm 2.5	96.5 \pm 3.7	98.5 \pm 2.7 ^a
<i>t</i> 值	0.21	0.58	1.67	1.05	1.46	5.90
<i>P</i> 值	0.42	0.27	0.04	0.14	0.07	0.01

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

表 3 两组患者术前、术中和术后心率的变化 ($n = 80$, mean \pm SD)

分组	心率(min ⁻¹)		
	术前	术中	术后
对照组	89.2 \pm 14.7	73.3 \pm 12.5	82.3 \pm 14.5
观察组	88.7 \pm 14.2	75.5 \pm 14.3	86.8 \pm 13.7 ^b
<i>t</i> 值	0.22	1.03	2.02
<i>P</i> 值	0.41	0.15	0.02

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

镜、肠镜检查等的麻醉^[5]。但异丙酚镇痛作用较弱,大剂量使用时可能会对心血管功能产生抑制。咪唑安定可在海马区阻止信息从第一级记忆(短时记忆)进入第二级(长时记忆),从而产生顺行性遗忘,起到麻醉作用。芬太尼是阿片类的强效镇痛剂,有良好的镇痛效果,可维持心血管功能稳定^[6],与麻醉药物联合应用,可取长补短,增强异丙酚的致意识消失作用并改善麻醉效果,能明显的减轻患者术后的疼痛和焦虑不适,降低不良反应,同时还可减少药物用量。镇静剂量的异丙酚或复合芬太尼能明显的抑制纤维胃镜检查时硬质纤维镜对咽喉、食管的强烈刺激,可明显抑制患者血压和心率的变化^[7]。

金华等^[8]研究表明,胃镜检查术中异丙酚复合咪唑安定、芬太尼可使人睡眠时间缩短,苏醒时间和定向力恢复时间延长,呛咳、流泪、肢体活动、人镜有阻力等胃镜操作反应的发生率较低,需要追加异丙酚率也较低,检查术后完全遗忘率较高,术中血液动力学平稳,提示胃镜检查术中异丙酚复合咪唑安定、芬太尼麻醉时,不仅可以增强催眠作用,而且可以抑制对伤害性刺激的反应。徐志勇等^[9]的随机、双盲、多中心研究结果表明,联用芬太尼,与单用异丙酚组比较,同样显示出较好的麻醉效果。

本研究观察结果显示:观察组麻醉镇痛效

果的优良率达到了100%,明显高于对照组,差异有统计学意义($Z = 2.14$, $P = 0.03$),表明芬太尼和异丙酚联用能更好地减轻患者痛苦;两组术后监测MAP、SPO₂和HR的变化均低于术前,其中观察组术后恢复情况较好,HR和SPO₂与对照组比较,差异有显著统计学差异($P < 0.01$),表明患者术后的心血管功能和呼吸系统稳定,无不良反应。结果表明,无痛胃镜检查安全有效,但在检查中仍要严格监测患者的生命体征,静脉用药时要缓慢,以免引起严重的呼吸抑制。本研究结果与以往研究^[10-15]结果一致。

本研究结果表明,芬太尼和异丙酚联用进行无痛胃镜检查减轻了患者的生理不适和痛苦,避免了心血管呼吸骤停等意外,能提高诊疗准确性,增加复查率,给胃镜检查带来了方便,是有效、安全的检查方法。

4 参考文献

- 侯守琳, 张燕, 李滔, 何春华. 老年患者无痛胃镜检查的不良反应及处理. 临床麻醉学杂志 2009; 25: 826
- Zeppetella G, Messina J, Xie F, Slatkin NE. Consistent and clinically relevant effects with fentanyl buccal tablet in the treatment of patients receiving maintenance opioid therapy and experiencing cancer-related breakthrough pain. *Pain Pract* 2010; 10: 287-293 [PMID: 20230447 DOI: 10.1111/j.1533-2500.2010.00359.x]
- 杨文燕, 李小燕. 80岁以上老年人无痛胃肠镜检查的评估及对策. 昆明医学院学报 2010; (4): 138-139
- Holdgate A, Cao A, Lo KM. The implementation of intranasal fentanyl for children in a mixed adult and pediatric emergency department reduces time to analgesic administration. *Acad Emerg Med* 2010; 17: 214-217 [PMID: 20070272 DOI: 10.1111/j.1553-2712.2009.00636.x]
- Osinaike BB, Akere A, Olajumoke TO, Oyebamiji EO. Cardiorespiratory changes during upper gastrointestinal endoscopy. *Afr Health Sci* 2007; 7: 115-119 [PMID: 17594289]
- 黎永军, 齐翠花, 田江, 吴秀玲. 异丙酚及其联合芬太尼应用于老年无痛胃镜30例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 690-693
- Cicero TJ, Ellis MS, Paradis A, Ortbal Z. Determi-

- nants of fentanyl and other potent μ opioid agonist misuse in opioid-dependent individuals. *Pharmacoevidemiol Drug Saf* 2010; 19: 1057-1063 [PMID: 20597128 DOI: 10.1002/pds.1989]
- 8 金华, 衡新华, 李德亮, 唐天云, 李勇军, 唐晓丹. 胃镜检查术患者异丙酚复合咪唑安定、芬太尼麻醉的效果. *中华麻醉学杂志* 2006; 26: 375-376
- 9 徐志勇, 王晓, 黄景峰, 杨静, 刘进, 曹剑, 易斌, 陶国才, 张涛, 罗爱林, 田玉科, 华震, 左明章, 刘翔. 胃镜检查术患者不同剂量瑞芬太尼复合异丙酚麻醉效果的比较随机、双盲、多中心研究. *中华麻醉学杂志* 2008; 28: 86-87
- 10 杨静, 罗俊, 王晓, 刘进. 胃镜检查术患者乳白依托咪酯-芬太尼咪唑安定麻醉的效果. *中华麻醉学杂志* 2008; 28: 293-296
- 11 徐志勇, 王晓, 李杰, 思永玉, 刘进. 瑞芬太尼在无痛胃镜中的应用研究. *临床麻醉学杂志* 2006; 22: 58-59
- 12 Egan TD, Kern SE, Muir KT, White J. Remifentanyl by bolus injection: a safety, pharmacokinetic, pharmacodynamic, and age effect investigation in human volunteers. *Br J Anaesth* 2004; 92: 335-343 [PMID: 14970134 DOI: 10.1093/bja/ae075]
- 13 张艺沈, 米卫东, 张宏咪唑安定和丙泊酚复合应用对术中患者遗忘作用的研究. *临床麻醉学杂志* 2002; 18: 332-333
- 14 孟彤, 岳云, 贾宝森. 术前口服咪唑安定的遗忘作用与内隐记忆的关系. *临床麻醉学杂志* 2001; 17: 177-179
- 15 Clarke AC, Chiragakis L, Hillman LC, Kaye GL. Sedation for endoscopy: the safe use of propofol by general practitioner sedationists. *Med J Aust* 2002; 176: 158-161 [PMID: 11913915]

■同行评价

本文方法科学, 设计合理, 统计学处理方法的使用恰当, 科学结论明确, 有系统的理论分析和有价值的科学结论, 文章的科学性、创新性和可读性都达到了较高水平。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉

■背景资料

胃癌是西藏地区最常见的恶性肿瘤之一, 但胃癌的发病状况并不十分明确, 为明确胃癌流行特征, 进一步提高高原地区胃癌的预防及诊治水平, 我们开展了以拉萨地区社区人群为研究现场的胃癌流行病学调查。

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 西藏自治区人民医院消化内科 西藏自治区拉萨市 850000

次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉, 西藏自治区拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区卫生所 西藏自治区拉萨市 850002

旦增, 主任医师, 主要从事高原消化系统疾病的基础研究及临床诊治。

国家自然科学基金资助项目2010, No. 81060206

作者贡献分布: 本文由旦增负责课题设计和文章撰写; 李康负责课题实施、资料收集及文章校对; 王中华、旺加、刚组、向巴泽西、赤列旺姆、蒋秀英及巴桑负责胃镜筛查; 次旦伦珠、次仁扎西及德吉负责流行病学调查。

通讯作者: 李康, 副主任医师, 850000, 西藏自治区拉萨市林廓北路18号, 西藏自治区人民医院消化内科。

likang820@aliyun.com

收稿日期: 2013-03-01 修回日期: 2013-07-03

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa

Zeng Dan, Kang Li, Zhong-Hua Wang, Ze-Xi Xiangba, Zu Gang, Wang-Mu Chilie, Xiu-Ying Jiang, Sang Ba, Jia Wang, Zha-Xi Ciren, Lun-Zhu Cidan, Ji De

Zeng Dan, Kang Li, Zhong-Hua Wang, Ze-Xi Xiangba, Zu Gang, Wang-Mu Chilie, Xiu-Ying Jiang, Sang Ba, Jia Wang, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Tibet Autonomous Region, Lhasa 850000, China
Zha-Xi Ciren, Lun-Zhu Cidan, Ji De, Healthcare Center of Naiqiong Community, Duilongdeqing County, Lhasa, Tibet Autonomous Region, Lhasa 850002, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060206

Correspondence to: Kang Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Tibet Autonomous Region, 18 Linkuo North Road, Lhasa 850000, Tibet, China. likang820@aliyun.com

Received: 2013-03-01 Revised: 2013-07-03

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To analyze the epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa to provide a theoretical basis for comprehensive prevention and treatment of gastric cancer in the plateau region.

METHODS: This survey was designed to investigate the incidence and prevalence of gastric cancer in a population in Naiqiong community, which is located in Duilongdeqing county, Lha-

sa. A total of 9423 subjects participated in this survey on 1 July, 2010. All the participants had an age above 35 years. They selectively underwent either sequence mass screening program for gastric cancer for high-risk population or sequence mass screening program for fecal occult blood test by filling out questionnaires. Disease and death registries were conducted.

RESULTS: The rough incidence of gastric cancer was 64.8/100000 (79.1/100000 for males and 52.0/100000 for females), the rough prevalence was 96.7/100000 (123.9/100000 for males and 72.2/100000 for females), and the rough mortality rate was 31.8/100000 (44.8/100000 for males and 20.2/100000 for females).

CONCLUSION: The incidence of gastric cancer in Lhasa community population is significantly higher than national average level. Effective measures catering to epidemiological features in the plateau region should be implemented to prevent and treat gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Epidemiology; Community population; Lhasa

Dan Z, Li K, Wang ZH, Xiangba ZX, Gang Z, Chilie WM, Jiang XY, Ba S, Wang J, Ciren ZX, Cidan LZ, De J. Epidemiological features of gastric cancer in a community population in Lhasa. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2104-2108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2104>

摘要

目的: 应用流行病学的方法探讨拉萨地区社区人群胃癌流行特征, 为高原地区胃癌的综合防治提供科学依据。

方法: 选择拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区作为调查研究现场, 取2010-07-01时间截面的全人口9423人, 以35岁以上人群作为调查对象, 通过问卷调查选择“高危人群胃癌序贯筛检方案”和“大便隐血试验序贯筛检方案”, 并进

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

行疾病登记和死亡登记, 从而探讨拉萨地区一个完整社区人群胃癌的患病和发病情况。

结果: 拉萨地区社区人群胃癌粗发病率为64.8/10万(男性79.1/10万, 女性52.0/10万); 粗患病率为96.7/10万(男性123.9/10万, 女性72.2/10万); 粗死亡率为31.8/10万(男性44.8/10万, 女性20.2/10万)。

结论: 拉萨地区社区人群胃癌发病明显高于全国平均水平, 应结合高原地区发病特点因地制宜积极做好综合防控工作。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃癌; 流行病学; 社区人群; 拉萨地区

核心提示: 本文以拉萨地区社区人群为研究现场, 通过问卷调查选择“高危人群”联合“大便隐血试验”的胃癌序贯筛查方案。结果显示, 拉萨地区社区人群胃癌发病明显高于全国平均水平, 应结合高原地区胃癌发病特点因地制宜积极做好综合防控工作。

旦增, 李康, 王中华, 向巴泽西, 刚组, 赤列旺姆, 蒋秀英, 巴桑, 旺加, 次仁扎西, 次旦伦珠, 德吉. 拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2104-2108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2104.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2104>

0 引言

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 病死率高, 对人类健康和生命构成严重威胁。据2000年资料统计, 全球每年新发胃癌占有所有新发癌症病例的9%, 仅次于肺癌、乳腺癌和肠癌之后, 位居第4位^[1]。尽管胃癌其发病率在全球呈普遍下降趋势, 但在中国、日本和拉丁美洲地区仍维持较高的发病率^[2]。据估计, 2002年全球新发胃癌病例92.3万, 其中42%的病例发生在中国^[3,4]。2005年统计结果显示我国胃癌发病率在男性中达37.1/10万, 女性中为17.4/10万^[5]。在中国, 胃癌的死亡率为男性: 40.8/10万, 女性: 18.6/10万, 分别是欧美发达国家的4.2-7.9倍和3.8-8.0倍, 并且有明显的地区和城乡差异, 农村是城市的1.6倍^[6,7]。

胃癌的病因和危险因素很复杂, 是环境和遗传因素综合作用的结果, 流行病学研究认为, 胃癌的发生主要与环境、饮食、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、吸烟、饮酒等因素关系密切^[8,9]。西藏地区是全国胃癌高发区之

一^[10], 已严重威胁到高原人民群众的生命健康, 对胃癌的流行病学研究已成为当前高原医学工作的重要课题之一。为掌握高原地区胃癌的发病状况、明确胃癌流行特征, 进一步提高胃癌的预防及诊治水平, 从而为各级卫生部门制定胃癌的综合防治策略提供科学依据。因此, 本课题拟在以往工作的基础上, 结合国内外胃癌普查经验, 以西藏拉萨地区社区人群为研究现场, 开展了高原地区胃癌的流行病学研究。

1 材料和方法

1.1 材料 选择拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区作为调查研究现场, 来探讨西藏高原地区一个完整社区人群胃癌的患病及发病情况。乃琼镇地处西藏中部青藏高原腹地, 拉萨河畔, 平均海拔3650-4000 m左右, 距拉萨市区13公里。全镇共有6个行政村, 当地主要以农业为主, 气候特点呈现冬季寒冷干燥, 夏季温暖湿润, 干湿季分明, 昼夜温差大, 无霜期较短。农作物以青稞、小麦、土豆、油菜花等为主, 2010年全镇人口2880户, 共9423人。采用整群抽样的方法选取拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区6个自然行政村35岁以上世居藏族人群作为调查对象。符合下列条件者为胃癌高危人群: (1)家族一级亲属中患有胃癌病史者, 年龄 \geq 亲属胃癌诊断年龄-10岁; (2)有长期慢性萎缩性胃炎史, 尤其是伴肠化、不典型增生者; (3)有胃溃疡病史; (4)胃手术史; (5)患有胃息肉病史等。有下列一项或一项以上者为症状人群: (1)长期反复腹痛、腹胀、反酸、嗝气、恶心、呕吐; (2)不明原因食欲减退、贫血、消瘦、黑便; (3)不明原因上腹部不适; (4)不明原因上腹部包块。

1.2 方法

1.2.1 调查方法: 根据高原地区藏族人群人口特征, 生活特点等设计问卷调查表, 主要包括患者一般情况、消化系统症状及体征、既往疾病史及个人史(包括消化疾病史及肿瘤家族史); 生活方式及饮食情况等。问卷调查采取面访的方式亲自深入到调查人群家中调查, 结束后当场收回调查问卷。调查之前对社区调查员(社区医生、乡村医生)进行培训, 了解流行病学的基本方法和原则, 使社区医生掌握调查方法, 并能独立完成问卷调查。

发病率的调查采取现况调查的研究设计方案, 随机整群抽样拉萨市堆龙德庆县乃琼镇社区6个自然行政村进行胃癌筛查。通过借鉴国内

■研发前沿

胃癌已成为严重威胁西藏高原地区人民群众健康的消化系肿瘤, 预后差, 病死率高。本文通过高原地区一个完整社区人群进行胃癌筛查, 从而了解西藏地区胃癌患病及发病情况。

■相关报道

科学的筛检方案应该是可靠、简便、较为实用易于群众所接受。在胃癌筛查方面我国林三仁教授根据我国国情, 提出以胃镜检查为最终手段的胃癌序贯筛查法的研究, 通过该方法进行有效性的评价, 认为该筛查方法切实可行, 可在我国加以广泛推广应用。

■创新盘点

该研究课题首次
在西藏地区进行
了基于社区人群
为基础的“高危
人群胃癌序贯筛
检联合“大便隐
血试验序贯筛
检”的胃癌流行
病学筛查方案,对
于高原地区采取
科学的综合预防
策略有重要意义。

胃癌筛查经验^[11-14],结合西藏高原地区实际情况,本次普查我们同时使用两种筛检方案:(1)“高危人群胃癌筛检方案”:问卷调查→高危人群和症状人群→电子胃镜检查;(2)“大便隐血试验(FOBT)筛检方案”:FOBT检测试纸法阳性→电子胃镜检查。大便隐血试验现场进行,使用的单克隆抗体由艾博生物医药(杭州)有限公司提供(生产批号为201006173/3)。对调查发现高危人群、症状人群和大便隐血试验阳性者发放胃镜检查卡,定期安排到西藏自治区人民医院(拉萨)消化内镜中心进行电子胃镜检查。同时对该5个镇进行疾病登记和死因登记,调查该地区胃癌的患病和死亡情况。胃癌发病率锁定时间为2010-01-01/2010-12-31。6个村社区人口数锁定时间为2010-07-01。在调查中要求认真做好质量控制措施,并在规定时间内完成。

1.2.2 操作步骤:拉萨市堆龙德庆县乃琼镇6个自然行政村全人口→问卷调查+大便隐血实验→高危人群、症状人群和粪便潜血实验阳性者→电子胃镜检查。胃镜检查前签署知情同意书,所有病变诊断及转归的判定均以组织病理学检测为依据,病理诊断采用WHO的病理学标准。

统计学处理 所有普查结果均由双人独立输入计算机,用EpiData3.1建立数据库,并进行一致性检验。数据分析均在SPSS15.0统计学软件包完成。

2 结果

2.1 问卷调查结果 社区6个行政村常住世居藏族人口共9423人(男性4463人,女性4960人),本次调查选取35岁以上人群作为调查对象,经统计共约4512人。问卷调查采取面访形式进行,共1843人参加调查问卷,剔除不合格问卷调查12份,共1831人完成有效调查问卷,占该社区6个行政村常住35岁常住人口的40.6%,涉及藏族农户1238个家庭。调查符合高危人群254例,症状人群442例,高危人群及症状人群合计共约696人,检出率为38.0%(696/1831)。

2.2 大便隐血检查结果 总共完成大便隐血试验检查1281例,阳性36例,阳性率2.8%。高危人群254例中,阳性9例,阳性率3.5%。442例症状人群中,阳性27例,阳性率6.1%。

2.3 内镜检查结果 需内镜检查696人(所有免疫法粪隐血试验阳性者+高危人群隐血试验阴性者+症状人群隐血试验阴性者),实际镜检447人(男性203例,女性244例),镜检应答率为64.2%。

镜检结果:胃癌2例,胃癌检出率0.29%(2/696),分别发现早期胃癌1例,进展期胃癌1例。同时,胃镜检出其他上消化道疾病包括:复合型溃疡2例、胃溃疡17例、幽门管溃疡1例、贲门口溃疡2例、幽门口息肉1例、幽门口炎1例、十二指肠球部溃疡8例、反流性食管炎10例、食管静脉曲张2例、食管糖原沉积症1例、高山食管胃黏膜像5例、霉菌性食管炎1例、巴雷特食管4例、贲门口炎6例、贲门失弛缓症1例、慢性浅表性胃炎99例、糜烂性胃炎159例、胆汁反流性胃炎66例、慢性萎缩性胃炎30例、胃底静脉曲张1例、胃窦痘疹5例、胃窦息肉4例、胃窦异位胰腺1例、十二指肠痘疹1例、十二指肠球炎14例、残胃炎1例、吻合口炎2例。

2.4 胃癌登记结果 2010-07-01社区常住世居藏族人口为9423人,2010-01-01/2010-12-31 2例(男性2例,女性1例)在筛检时间前被诊断为胃癌,另有3例死于胃癌(其中男2例,女1例)。

2.5 胃癌发病率、患病率和死亡率 本次调查乃琼镇社区人群接受内镜检查者共447人(男性203例,女性244例),检出胃癌两例(男性1例、女性1例),推算需内镜检查696人(男性311例,女性385例)中可检出胃癌男性: $(1/203 \times 311) = 1.53$, 女性: $(1/244 \times 385) = 1.58$ 。换言之,样本区1831人可检出胃癌男性1.53例,女性1.58例,加上2010年1月1日-2010年12月31日登记的胃癌病例(男性2例,女性1例),共计男性3.53例,女性2.58例。因此,乃琼镇社区人群男性胃癌粗发病率: $3.53/4463 \times 10^5 = 79.1/10$ 万; 女性胃癌粗发病率: $2.58/4960 \times 10^5 = 52.0/10$ 万。社区人口胃癌粗发病率为: $(3.53+2.58)/9423 \times 10^5 = 64.8/10$ 万。

问卷调查1831例中,有胃癌病史3例(男性2例,女性1例),因此胃癌粗患病率为 $(3.53+2.58+3)/9423 \times 10^5 = 96.7/10$ 万。男性胃癌粗患病率: $(3.53+2)/4463 \times 10^5 = 123.9/10$ 万; 女性胃癌粗患病率: $(2.58+1)/4960 \times 10^5 = 72.2/10$ 万。

社区全人口9423人中胃癌死亡3例(其中男性2例,女性1例),胃癌粗死亡率为 $3/9423 \times 10^5 = 31.8/10$ 万。男性胃癌粗死亡率: $2/4463 \times 10^5 = 44.8/10$ 万; 女性胃癌粗死亡率: $1/4960 \times 10^5 = 20.2/10$ 万。

3 讨论

科学的筛检方案应该是可靠、简便、费用少,较为实用易于群众所接受,通过筛查通常可以发现早期胃癌。目前认为早期胃癌预后好,其5

年及10年生存率均在90%以上, 而晚期胃癌的5年生存率仅有20%左右^[15]。

由于胃癌的症状无特异性, 我国超过90%的胃癌患者常规诊断时已是中晚期, 从而失去了治疗疾病的最佳时机, 预后差。因此, 加强胃癌筛查是早期诊断与治疗的基础, 也是降低胃癌死亡率的关键一环。近几十年来发达国家胃癌的发病率和死亡率在有显著下降, 其中以日本最为显著^[16,17]。自20世纪60年代以来, 日本政府就开展了以胃气钡双重对比造影结合内镜检查的全民普查方法, 大大提高了早期胃癌的检出率。在日本, 胃癌死亡率持续下降主要归功于早诊早治方法的改进, 并在社区水平上进行干预。而根据我国国情在胃癌筛查方面, 目前倾向于对胃癌高危人群的重点筛查工作, 通过胃镜检查从而达到早诊断、早治疗, 从而降低胃癌死亡率^[18,19]。

拉萨市堆龙德庆县乃琼镇位于西藏自治区青藏高原腹地, 当地常住人口均为世居藏族, 主要以农业为主, 属于典型的高原农业居住区生活习性 & 饮食结构特点, 居住地人口较为集中, 可基本代表西藏高原农村地区社区基本状况。通过借鉴国内胃癌筛查经验, 结合西藏地区实际情况, 总结我们以往本地区工作经验, 本次普查我们采取社区人群问卷调查, 筛出高危人群、症状人群以及大便隐血试验阳性者进一步进行电子胃镜检查。

本次普查的数据表明, 拉萨地区社区藏族人群胃癌的粗发病率为64.8/10万, 明显高于全国总体水平^[5]及世界平均水平^[3], 处于我国胃癌高发地区, 成为影响本地区社区人群的最主要恶性肿瘤。同时我们在本次电子胃镜筛查中发现, 内镜检出最多的胃部疾病是糜烂性胃炎, 比例高达35.6%(159/447), 而胃癌癌前疾病包括慢性萎缩性胃炎、胃溃疡分别达到6.7%(30/447)、4.9%(22/447), 分别在检出各种胃部疾病位列第四、五位。各种类型胃炎合计占胃镜检出各种疾病总人数高达81.4%(364/447), 表明本地区患慢性胃炎、消化性溃疡等消化系统疾病十分普遍, 成为本地区最常见的上消化道疾病, 可能为胃癌的进一步发生提供了前提条件。

胃癌的发生是多因素、多阶段、多环节作用的结果, 目前发病机制还不甚清楚。国内与胃癌相关的危险因素包括环境和饮食、不良的生活方式、*H. pylori*、遗传和癌前状态等^[20,21]。

青藏高原特殊的自然环境条件下, 由于气候环境、地理条件、生活习惯等因素的差异, 高原藏族人群饮食中肉、动物油脂比重大, 而蔬菜水果相对偏少, 日常饮料以茶(盐茶、酥油茶)、和酒(青稞酒)为主。饮食结构中食物普遍较为粗糙、坚硬、高钠、高脂, 具有喜食生硬、辛辣食物的特点, 人群*H. pylori*感染率高, 服用非甾体类解热镇痛药物较为普遍, 患消化系统疾病十分普遍^[22]。以往我们进行的一项有关高原地区胃癌危险因素的病例-对照的研究中, 已经证实高原藏族人群经常进食坚硬食物、高钠摄入、长期患慢性萎缩性胃炎、胃溃疡以及*H. pylori*感染成为高原人群患胃癌的主要危险因素^[23]。本次胃镜筛查人群患胃溃疡、慢性萎缩性胃炎等癌前疾病所占比例较高, 也印证了这一点。在保护因素方面, 由于高原地区属于高寒缺氧地区, 受地理环境及气候条件影响, 广大农村地区蔬菜、水果生长种类及产量本身较少, 再加上生活习惯等原因, 本地区人群较平原地区摄入量明显不足。另外, 有研究认为高原缺氧条件下可造成机体胃黏膜缺血缺氧, 细胞凋亡增加^[24], 以及低氧环境人体胃动力异常, 胃腔的生理功能发生改变, 使得胃黏膜屏障受损, 其自身修复能力减弱, 易导致各种有害因子的侵袭, 胃部病变长期不愈或反复发作, 从而可能造成各种胃癌癌前疾病、癌前病变在高原地区高发。

通过本次普查, 我们确定了样本区胃癌的高危人群, 为今后胃癌的筛查和监控(随访)提供了目标人群, 同时也为西藏高原地区进行更大规模的普查奠定了基础, 积累了宝贵的筛查经验。通过本次调查, 针对高原地区胃癌及癌前疾病高发的状况, 应当引起当地各级政府及医疗卫生部门的高度重视, 通过普及胃镜检查手段, 进一步提高上消化道疾病诊治水平, 积极开展各种胃癌癌前疾病、癌前病变的早诊早治成为当务之急。与此同时, 要积极做好本地区胃癌常见病因及相关危险因素的预防工作, 尤其在广大农村、牧区, 对广大农牧民群众进行广泛健康教育, 大力宣传胃癌防治知识, 提高防癌意识, 倡导健康科学的生活方式。我们相信, 此举将对于降低本地区胃癌的发病, 提高西藏地区人民群众的健康水平, 造福于高原各族人民具有重要意义。

志谢 本次胃癌流行病学调查得到当地拉萨市堆

■应用要点

拉萨地区胃癌序贯筛查方案的实施, 为今后高原地区胃癌的筛查和监控(随访)提供了目标人群, 同时也为西藏高原地区进行更大规模的普查奠定了基础, 积累了宝贵的筛查经验。

■同行评价

本文对拉萨地区社区人群的胃癌流行病学特点进行了初步调查,为高原地区胃癌的综合防治提供了科学依据。

龙德庆县卫生局、拉萨市堆龙德庆县乃琼镇政府、乃琼镇社区卫生所、各乡村医务室、乡村医生、村官给予的全力支持和密切配合,是本项目得以顺利完成的基础和保证。在此,我们表示衷心的感谢!

4 参考文献

- Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543 [PMID: 11905707 DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00486-7]
- Terry MB, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002; 12: 111-127 [PMID: 11979413 DOI: 10.1053/srao.30814]
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- Ferlay J, Bray, Pisani P. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide [CP]. IARC Cancer Base, No 5, version 2.0. Lyon: IARC Press, 2004
- 杨玲, 李连弟, 陈育德, Parkin DM. 中国2000年及2005年恶性肿瘤发病死亡的估计与预测. *中国卫生统计杂志* 2005; 4: 218-221
- 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2004; 1: 4-9
- 李连弟, 鲁凤珠, 张思维. 1990-1992年中国恶性肿瘤死亡流行分布情况分析. *中华肿瘤杂志* 1996; 6: 403-407
- Forman D. The etiology of gastric cancer. *IARC Sci Publ* 1991; (105): 22-32 [PMID: 1855854]
- Zhang ZF, Kurtz RC, Sun M, Karpeh M, Yu GP, Gargon N, Fein JS, Georgopoulos SK, Harlap S. Adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia: medical conditions, tobacco, alcohol, and socioeconomic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 761-768 [PMID: 8896886]
- 李康, 旦增, 张亚历. 西藏地区肿瘤住院患者构成分析. *中国公共卫生* 2008; 24(Suppl): 55-57
- 丘新尧, 史奎雄, 施榕, 屠基陶, 陈浩泉. 胃癌的筛检—模式识别程序建立及现场应用. *中国卫生统计杂志* 1994; 5: 47-50
- 樊代明, 吴开春. 胃癌的生物学研究进展. *中国肿瘤杂志* 1995; 2: 12-14
- 丁士刚, 王觉生, 林三仁, 赵一鸣, 周丽雅. 胃癌序贯筛查法对降低胃癌死亡率的作用. *中国肿瘤临床与康复* 2001; 3: 38-40
- 孙远杰, 柳燕, 鲍晓蕾, 刘志忠, 杨丽, 曹霞, 徐涛. 早期胃癌序贯筛查的流行病学结果分析. *中国临床研究* 2010; 7: 560-562
- Vornovitskiĭ EG, Ignat'eva VB, Gollash M, Kulikov VI, Lipatkina LIu. [Cardiodepressive effect of platelet activating factor]. *Biull Eksp Biol Med* 1989; 107: 27-30 [PMID: 2914168 DOI: 10.1007/BF00837050]
- Miki K, Ichinose M, Ishikawa KB, Yahagi N, Matsushima M, Kakei N, Tsukada S, Kido M, Ishihama S, Shimizu Y. Clinical application of serum pepsinogen I and II levels for mass screening to detect gastric cancer. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 1086-1090 [PMID: 8226283 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1993.tb02805.x]
- Pisani P, Parkin DM. Screening for gastric cancer. *Cancer Treat Res* 1996; 86: 113-119 [PMID: 8886441 DOI: 10.1007/978-1-4613-1265-9_8]
- 林三仁, 王润田. 胃癌的早期诊断与胃癌普查. *中国肿瘤杂志* 1994; 3: 3-5
- 林三仁, 王润田. 胃癌早期诊断及筛查方法的研究(上). *内镜杂志* 1991; 1: 5-6
- 孙喜文, 姜景山, 戴旭东, 刘明, 石干波. 胃癌可疑危险因素病例对照研究. *中国慢性病预防与控制* 2000; 5: 259-262
- 刘新民, 王庆生, 马俊, 林小萍, 白广义, 吴树欣. 胃癌危险因素的病例对照研究. *中国慢性病预防与控制* 2001; 1: 10-12
- 黄跃, 蒋泗元. 世居高原藏族膳食营养及卫生习惯与疾病的关系. 拉萨: 首届西藏地区消化及内窥镜学术研讨会会议论文集, 2005: 38-42
- Li K, Zhang YL, Dan Z, Zhaxi CM, Nie J. Risk factors for the gastric cancer: a case-control study in Tibet. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 78-79 [PMID: 18632315 DOI: 10.1016/j.dld.2008.06.003]
- 张翠萍, 谢印芝, 尹昭云. 高原低氧对消化系统生理功能影响及病理性损伤. *解放军预防医学杂志* 2003; 3: 229-231

编辑 田滢 电编 鲁亚静



两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值

叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏 威

叶儒军, 梁平县人民医院检验科 重庆市梁平县 405211
郑培锐, 区宇洁, 中山大学达安基因股份有限公司 广东省广州市 510000
魏威, 南方医科大学生物技术学院 广东省广州市 510515
叶儒军, 主管检验师, 主要从事临床检验方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由魏威设计; 研究过程由叶儒军实施完成; 数据分析及病理支持由区宇洁与郑培锐完成; 本论文写作由叶儒军、魏威及区宇洁共同完成。
通讯作者: 魏威, 讲师, 510515, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医科大学生物技术学院. wwwei20052005@163.com
收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-04
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-07-28

PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B

Ru-Jun Ye, Pei-Rui Zheng, Yu-Jie Ou, Wei Wei

Ru-Jun Ye, People's Hospital of Liangping County, Chongqing 405211, China
Pei-Rui Zheng, Yu-Jie Ou, Ann Gene Co., LTD, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510000, Guangdong Province, China
Wei Wei, College of Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Correspondence to: Wei Wei, College of Biotechnology, Southern Medical University, 1838 Guangzhou Road, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. wwwei20052005@163.com
Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-04
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To compare the application value of PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay in the detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B.

METHODS: PCR-EB qualitative analysis or amp-lisensor quantitative assay was used to detect serum HBV-DNA levels in patients with hepatitis B who were positive for both HBsAg and anti-HBs (group A), those positive for HBsAg alone (group B), those positive for anti-HBs alone (group C), or those negative for both HBsAg and anti-HBs (group D). The detection rate of serum HBV-DNA was compared between the two groups.

RESULTS: HBsAg (S/N) value was significantly higher in group than in group A ($P < 0.05$), and anti-HBs value was significantly higher in group C than in group A ($P < 0.05$). The detection rate of serum HBV-DNA by Amp-lisensor quantitative assay was significantly higher than that by PCR-EB qualitative analysis ($P < 0.05$). For amp-lisensor quantitative assay, the positive rate of serum HBV-DNA was lowest in patients of group C ($P < 0.05$). Serum HBV-DNA rose significantly in patients with hepatitis B. HBV-DNA levels were significantly higher in groups A and B than in groups C and D (all $P < 0.05$), but showed no significant differences between groups A and B ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Amp-lisensor quantitative assay has a high sensitivity in the detection of serum HBV-DNA and is even able to detect HBV-DNA in patients who are positive for anti-HBs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: PCR-EB; Amp-lisensor; Hepatitis B virus; HBV-DNA

Ye RJ, Zheng PR, Ou YJ, Wei W. PCR-EB qualitative analysis versus amp-lisensor quantitative assay for detection of HBV-DNA in serum in patients with hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2109-2112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2109.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2109>

摘要

目的: 观察两种不同方法检测乙型肝炎患者血清中的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)-DNA的应用价值比较。

方法: 分别使用PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法对HBV患者, 乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)与抗-HBs同时阳性、HBsAg阳性、抗-HBs阳性、HBsAg与抗-HBs同时阴性进行血清HBV-DNA检查, 观察2组患者阳性检测率。

结果: B组(HBsAg阳性)患者HBsAg(S/N)

■背景资料

目前, 临床上用于HBV-DNA检测的方式方法较多, 从曾经的HBV-DNA的定性检测, 发展为目前HBV-DNA的定量检测。曾经常用的HBV-DNA检测方式有夹心斑点杂交法、PCR-EB定性检查等。但是临床资料表明, 上述2种检查方法存在阳性检测率低的缺陷。当前, 对于HBV-DNA检测灵敏度的要求越来越高, 正因如此, Amp-lisensor定量法检测HBV-DNA得到了较大的发展。与传统的定性检查不同, 其能直接反应病毒复制的程度, 指导临床治疗。

■同行评议者

林潮双, 副教授, 中山大学附属第三医院感染科

■ 研发前沿

目前,临床上用于检测血清HBV DNA的方法较多,随着研究的进一步深入以及检验技术的迅速发展,新的HBV DNA检查手段不断出现。

值高于A组($P<0.05$), C组抗-HBs值高于A组(HBsAg与抗-HBs同时阳性)($P<0.05$), Amp-lisensor定量检测下,患者HBV-DNA阳性率明显高于PCR-EB定性组($P<0.05$)。Amp-lisensor定量检测中, C组(抗-HBs阳性)患者的阳性检测率最低($P<0.05$), 乙型肝炎患者血清中HBV-DNA对数值均有明显的上升, 与E组(乙型肝炎两对半全阴性)比较均有统计学意义($P<0.05$)。A组与B组HBV-DNA对数值明显高于C组与D组(HBsAg与抗-HBs同时阴性)($P<0.05$), A组与B组HBV-DNA对数值比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高, 在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: PCR-EB; Amp-lisensor; 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

核心提示: 通过对比PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法检查HBV患者血清中HBV-DNA的阳性率以及含量, 阐述两种方法在临床中的应用价值。Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高, 而在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA, 为HBV患者的治疗与预后提供了直接的证据。

叶儒军, 郑培锐, 区宇洁, 魏威. 两种方法检测乙型肝炎患者血清HBV-DNA的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2109-2112 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2109.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2109>

0 引言

乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(hepatitis B virus, HBV-DNA)是反映乙型肝炎患者是否存在HBV复制的一个经典指标, 具有较高的准确性^[1]。目前, 临床上用于HBV-DNA检测的方式方法较多, 从曾经的HBV-DNA的定性检测, 发展为目前HBV-DNA的定量检测^[2]。曾经常用的HBV-DNA检测方式有夹心斑点杂交法、PCR-EB定性检查等^[3,4]。但是临床资料表明, 上述两种检查方法存在阳性检测率低的缺陷。当前, 对于HBV-DNA检测灵敏度的要求越来越高, 正因如此, Amp-lisensor定量法检测HBV-DNA得到了较大的发展。与传统的定性检查不同, 其能直接反应病毒复制的程度, 指导临床治疗。笔者通过对比PCR-EB定性及Amp-lisensor定量法检查HBV患者血

清中HBV-DNA的阳性率及含量, 阐述两种方法在临床中的应用价值, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究对象125例, 均为我院2012-01/2012-12门诊或住院治疗的HBV患者或寄往曾明确诊断为HBV的患者。根据患者检测指标进行临床分组。其中A组患者为乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)与抗-HBs同时阳性; B组为HBsAg阳性; C组为抗-HBs阳性; D组为HBsAg与抗-HBs同时阴性; E组为乙型肝炎两对半全阴性, 肝功能正常的健康体检者。各组病例均为25例。HBV临床诊断标准参考2000-2001年《病毒性肝炎防治方案》, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、中华医学会肝病学分会联合修订。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 清晨空腹采取肘静脉血10 mL, 经4 °C离心机5000 r/min离心15 min分理出血清, -20 °C冰箱中保存。

1.2.2 HBV 5M检测: 使用1 Mx自动免疫分析仪进行, 采用微粒子酶免分析法HBV 5M试剂盒, 仪器与试剂盒均购自Abbott公司, 实验操作按说明书进行。

1.2.3 PCR-EB定性检测: (1)实验步骤: 将5 μL 25 mmol/L MgCl₂加入50 μL血清中, 98 °C变性15 min, 然后进行离心, 变性裂解液5 μL加入标准反应液15 μL中, 密封94 °C变性5 min, 进行45个循环。所有反应在ABI Prism 7300型荧光定量PCR仪(Applied Biosystems, 美国)上进行。

1.2.4 Amp-lisensor定量法检测: 使用AG-9600荧光检测仪进行检测, 并采用HBV-DNA定量试剂盒以及ASAP软件, 实验操作根据试剂盒说明书进行。实验设立阴性及阳性对照组以及最大信号对照组, 同时严格参考Kwork等提出的预防污染措施, 阳性截止值 $\geq 2 \times 10^3$ copy/mL。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本t检验, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者HBV 5M检测结果比较 B组患者HBsAg(S/N)值高于A组($P<0.05$), C组抗-HBs值高于A组($P<0.05$)(表1)。

2.2 2种方法检测血清HBV-DNA阳性率比较

表 1 各组患者HBV 5M检测结果比较 ($n = 25$, mean \pm SD)

分组	HBsAg(S/N)值	抗-HBs值(IU/L)	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	98.3 \pm 69.0	92.9 \pm 202.4	11	8	25
B组: HBsAg阳性	104.2 \pm 73.9 ^a		10	8	25
C组: 抗-HBs阳性		115.2 \pm 187.1 ^a	4	11	25
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性			5	13	25

^a $P < 0.05$ vs A组. HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒.

表 2 2种方法检测血清HBV-DNA阳性率比较 ($n = 25$)

分组	PCR-EB定性		Amp-lisensor定量	
	阳性数(n)	阳性率(%)	阳性数(n)	阳性率(%)
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	17	68.0	23	92.0 ^{ac}
B组: HBsAg阳性	14	56.0	19	76.0 ^{ac}
C组: 抗-HBs阳性	6	24.0	13	52.0 ^a
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性	10	40.0	20	80.0 ^{ac}
总计	47	47.0	75	75.0 ^a

^a $P < 0.05$ vs PCR-EB组; ^c $P < 0.05$ vs C组. HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒.

表 3 Amp-lisensor定量检测各组血清HBV-DNA含量比较 ($n = 25$, mean \pm SD)

分组	HBV-DNA(对数值)	P 值			
		与对照组比较	与A组比较	与B组比较	与C组比较
A组: HBsAg与抗-HBs同时阳性	6.13 \pm 1.88	< 0.05			
B组: HBsAg阳性	6.09 \pm 1.79	< 0.05	> 0.05		
C组: 抗-HBs阳性	4.09 \pm 1.38	< 0.05	< 0.05	< 0.05	
D组: HBsAg与抗-HBs同时阴性	5.08 \pm 1.19	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
E组: 乙型肝炎两对半全阴性	1.99 \pm 0.55				

HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HBV: 乙型肝炎病毒; HBV-DNA: 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸.

Amp-lisensor定量检测下, 患者HBV-DNA无论在A、B、C、D组, 阳性率均明显高于PCR-EB定性组($P < 0.05$). Amp-lisensor定量检测中, C组患者的阳性检测率最低($P < 0.05$)(表2).

2.3 Amp-lisensor定量检测各组血清HBV-DNA含量比较 除E组(健康体检者)外, 乙型肝炎患者血清中HBV-DNA对数值均有明显的上升, 与E组比较均有统计学意义($P < 0.05$). A组与B组HBV-DNA对数值明显高于C组与D组($P < 0.05$), A组与B组HBV-DNA对数值比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

3 讨论

目前, 临床上用于检测血清HBV-DNA的方法较多, 随着研究的进一步深入以及检验技术的迅速发展, 新的HBV-DNA检查手段不断出现^[5]. Zaaier

等^[6]曾经使用斑点杂交法、分支链DNA信号扩增、Abbott液相杂交、PCR、Amp-lisensor定量等对HBV患者进行血清HBV-DNA灵敏度的检测. 结果发现, 各组灵敏度分别为 2.5×10^7 copy/mL、 2.5×10^6 copy/mL、 2.5×10^7 copy/mL、 2.5×10^2 copy/mL、50 copy/mL. 提示Amp-lisensor定量对于临床检查HBV患者血清HBV-DNA的灵敏度较高. 本研究对PCR与Amp-lisensor定量两种目前临床虫咬的检验HBV-DNA方法进行了观察, 可以发现, 无论在HBsAg与抗-HBs同时阳性、HBsAg阳性、抗-HBs阳性、HBsAg与抗-HBs同时阴性的患者中, Amp-lisensor检测的阳性检测率均明显高于PCR-EB. 这与Zaaier等^[6]的研究结果较为相似, 说明Amp-lisensor检测在检测HBV-DNA阳性率方面, 具有较高的检查灵敏度.

■ 相关报道

Zaaier等曾经使用斑点杂交法、分支链DNA信号扩增、Abbott液相杂交、PCR、Amp-lisensor定量等对HBV患者进行血清HBV-DNA灵敏度的检测. 结果发现, 各组灵敏度分别为 2.5×10^7 、 2.5×10^6 、 2.5×10^7 、 2.5×10^2 、50 copy/mL.

■同行评价

本文对比PCR-EB定性及Amplisensor定量法检查乙肝患者血清中HBV-DNA的阳性率及含量,研究两种方法在临床中的应用价值,研究选题具有一定科学和临床意义。

本研究显示,HBsAg与抗-HBs同时阳性的HBV患者,和普通的HBV患者一样,其血清HBV-DNA的含量均较高,且两组之间无统计学差异。但是,在抗-HBs阳性患者以及抗-HBc阳性患者方面,两组血清HBV-DNA含量明显低于A组与B组。然而,进行Amp-lisensor检测可以发现,两组的HBV-DNA阳性率仍达到52.0%(13/20)、80.0%(20/25),并且处于阳性截止值之上。传统的理解认为,如果HBV感染者血液中抗-HBs出现阳性,即表示患者体内的HBV病毒被清除,意味着HBV传染性的消失以及病情好转、康复^[7-9]。但是,通过本研究的结果,发现即使抗-HBs出现阳性,患者血清HBV-DNA含量仍然处于较高水平。因此,临床对于该类抗-HBs出现阳性的患者,需要进行进一步的研究,重新认识这个问题。随着检测手段的丰富,目前临床研究已经发现^[10,11],在一些抗-HBs阳性的HBV患者中,仍可以在血清或肝脏组织中发现较大量的HBV-DNA。有学者对1355例HBV慢性携带者进行了跟踪随访检测,在进行为期23 mo的检查后,发现有55例患者HBsAg发生自然转阴,32例患者出现抗-HBs阳性^[12]。对抗-HBs阳性的患者进行进一步观察,发现有近20%的患者,血清HBV-DNA检测阳性。而对55例HBsAg自然转阴的患者进行观察,能够发现18例患者出现肝癌、肝硬化以及亚急性重型肝炎。研究认为^[13,14],HBsAg自然转阴,甚至抗-HBs出现阳性,并不一定属于病情好转的标志,相反,在一些患者中,甚至出现病情恶化的可能。该情况的发生与体内仍存在一定量的HBV-DNA有关。因此,临床上定性检测HBV 5M,可能存在较大的误差,影响HBV患者的预后判断。而Amp-lisensor定量检测恰恰可以弥补各类定性检测方法可能带来的误差,精准得出患者血清HBV-DNA的含量,判断是否存在传染性或病情恶化^[15]。该技术与PCR的主要差别在于Amp-lisensor采用的是复合探针。一个探针上标以荧光报告基团,另一个探针上标以荧光淬灭基团,两探针之间能因碱基互补而结合。此时,两基团靠近而形成FRET结构,报告基团的荧光信号被

淬灭基团吸收。当两探针分开后,其间的FRET关系受到破坏,淬灭基团的抑制作用解除,报告基团的荧光信号得到释放。因此,Amp-lisensor的结果较为可靠,出现假阳性的情况相对较低。

总之,Amp-lisensor定量法检测血清HBV-DNA的灵敏度较高,在抗-HBs阳性患者中仍可以检测到HBV-DNA,为HBV患者的治疗与预后提供了直接的证据。

4 参考文献

- 1 马俊骥,冯丽英,冯志杰,姜慧卿,孙泽明,赵丽梅. HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理结果分析158例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1766-1771
- 2 张磊,张淑云. 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1644-1652
- 3 董爱爱,赵洁,贾建伟,袁桂玉. HBsAg定量检测在慢性HBV感染患者肝脏储备功能评价中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3033-3036
- 4 王秋平,陈斌,张琼,雷秀霞,周小棉,匡艳华. 临床研究3种免核酸提取PCR试剂盒检测乙型肝炎患者血清中HBV DNA的比较. 广东医学 2011; 32: 2251-2253
- 5 秦望森,沈立萍,张爽,尹文娇,王锋. 乙肝患者HBV感染指标、病毒复制水平与基因分型的关系分析. 中华实验和临床病毒学杂志 2012; 2: 328-330
- 6 Zaaijer HL, ter Borg F, Cuypers HT, Hermus MC, Lelie PN. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2088-2091 [PMID: 7814529]
- 7 李珉珉,洪丹妮,朱勤爱,朱德兰. PreS1抗原与HBeAg联合检测用于预测HBV-DNA的水平. 暨南大学学报(自然科学与医学版) 2011; 32: 637-640
- 8 黄清衡,陈文思. 乙型肝炎病毒DNA载量与HBeAg及ALT联合检测的意义. 实用医学杂志 2011; 27: 4308-4310
- 9 裴彦祯,韩涛,马晓艳,李莹,邢晶,宋佐莉. HBsAg及HBV DNA定量水平在慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌患者中的变化. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 743-746
- 10 王美容,邱宁,卢实春,修典荣,于建国,李彤,刘学恩,庄辉. 肝组织中HBV cccDNA荧光定量聚合酶链反应检测法的建立. 中华流行病学杂志 2011; 32: 504-509
- 11 蒋素贞,鲁凤民,庄辉. 慢性乙型肝炎病毒DNA定量检测的临床意义. 中华检验医学杂志 2012; 35: 117-121
- 12 黄玉梅. 酶联免疫法检测乙肝二对半与PCR法检测HBV DNA的关系. 中国实验诊断学 2011; 15: 1090
- 13 朱锦宏,吴晓蔓. 乙肝患者血清HBV cccDNA的临床意义. 实用医学杂志 2013; 29: 395-397
- 14 刘伟平,殷明刚,阮艳秋. HBV DNA检测在血清HBsAg与HBsAb共存模式中的临床价值. 医学研究杂志 2012; 41: 136-139
- 15 胡惠萍,袁晓华,詹传华. 乙肝患者血清标志物模式与HBV DNA检测结果分析. 国际检验医学杂志 2012; 33: 2269-2270

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明, 承德医学院附属医院肿瘤外科 河北省承德市 067000

侯雷, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究.

作者贡献分布: 本文由侯雷写作; 刘志满、张学敏及赵明明共同参与本研究.

通讯作者: 侯雷, 主治医师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院肿瘤外科. hbcdecyfhl@126.com

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-06-08

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer

Lei Hou, Zhi-Man Liu, Xue-Min Zhang, Ming-Ming Zhao

Lei Hou, Zhi-Man Liu, Xue-Min Zhang, Ming-Ming Zhao, Department of Surgical Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Lei Hou, Attending Physician, Department of Surgical Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. hbcdecyfhl@126.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-06-08

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

AIM: To observe the function of pelvic autonomic nerve preservation (PANP) during laparoscopic surgery for low rectal cancer.

METHODS: Seventy-six elderly patients who underwent laparoscopic surgery for low rectal cancer were included in this study. These patients were divided into either an observation group ($n = 40$) or a control group ($n = 36$). The observation group underwent PANP, while the control group did not undergo PANP. After treatment, the short-term and long-term micturition function was observed. In addition, a three-year follow-up was performed, and the quality of life was scored at the last follow-up.

RESULTS: The percentage of patients who had improved short-term and long-term micturition function was significantly higher in the observation group than in the control group (17.50% vs

47.22%, 0% vs 5.56%, both $P < 0.05$). Psychological state (SAS, SDS) and self esteem (SES) scores were significantly better in the observation group than in the control group (36.64 ± 4.27 vs 42.37 ± 4.35 , 32.84 ± 3.21 vs 39.43 ± 3.92 , 24.45 ± 4.20 vs 18.54 ± 3.20 , all $P < 0.01$).

CONCLUSION: PANP during laparoscopic surgery for low rectal cancer can improve micturition function and patient's quality of life.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Low rectal cancer; Pelvic autonomic nerve

Hou L, Liu ZM, Zhang XM, Zhao MM. Clinical value of pelvic autonomic nerve preservation during laparoscopic surgery for low rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2113-2116 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i21.2113>

摘要

目的: 观察腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经(pelvic autonomic nerve, PANP)的作用.

方法: 对76例腹腔镜下中低位直肠癌手术进行回顾性临床研究, 其中40例PANP(观察组), 36例非PANP(对照组). 观察两组近期、远期排尿情况, 同时对患者进行了为期3年的临床随访, 并在最后一次随访时进行生活质量评分调查.

结果: 观察组患者近期、远期排尿功能的恢复均好于对照组(17.50% vs 47.22%, 0% vs 5.56%, $P < 0.05$). 心理状态[焦虑自评量表(self-rating anxiety scale)、抑郁量表(self-rating depression scale)、自尊评价(self esteem)等相关生活质量评分, 观察组亦显著好于对照组(36.64 ± 4.27 vs 42.37 ± 4.35 , 32.84 ± 3.21 vs 39.43 ± 3.92 , 24.45 ± 4.20 vs 18.54 ± 3.20 , 均 $P < 0.01$).

结论: 腹腔镜下中低位直肠癌手术中保留

■背景资料

伴随人们饮食习惯以及饮食结构的改变, 直肠癌发病率呈逐年上升的趋势. 对于早期直肠癌的患者, 临床上主要以手术治疗为主. 目前, 随着腹腔镜广泛应用于直肠癌手术的治疗过程中, 关于是否保留盆腔自主神经, 国内外学者均有着不同看法.

■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

■创新盘点

本次结果发现, PANP患者近期、远期排尿功能均未受到明显干预, 患者自主排尿功能均能在较短时间内恢复。

PANP对患者排尿功能影响较小, 提高患者的生活质量。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔镜; 低位直肠癌; 盆腔自主神经

核心提示: 目前, 随着腹腔镜的广泛应用, 为直肠癌手术中保留盆腔自主神经创造了更好的条件。腹腔镜手术创伤小, 解剖精准, 减小副损伤, 提高术后生存质量及远期生存率。

侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明. 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(21): 2113-2116 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2113.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2113>

0 引言

直肠癌的发病率仅次于胃癌与食道癌, 属于恶性程度较高消化系恶性肿瘤^[1], 统计发现, 伴随人们饮食习惯以及饮食结构的改变, 其发病率呈逐年上升的趋势^[2]. 对于早期直肠癌的患者, 临床上主要以手术治疗为主^[3]. 目前, 随着腹腔镜广泛应用于直肠癌手术的治疗过程中, 关于是否保留盆腔自主神经(pelvic autonomic nerve, PANP), 国内外学者均有着不同看法^[4], 本研究就腹腔镜下中低位直肠癌手术中是否保留盆腔自主神经在观察组与对照组间进行了分组观察, 探讨其与患者预后的关系. 现报告如下:

1 材料和方法

1.1 材料 对我院2007-05/2010-05腹腔镜手术治疗的76例中低位直肠癌患者进行回顾性研究. 患者术前均已被病理证明为直肠癌; 术前未进行放、化疗; 术前无前列腺增生症、神经源性膀胱、尿道狭窄等影响排尿的疾病; 肿瘤直径 ≤ 5 cm, 肿瘤下缘距离肛门7-12 cm; 不合并肠梗阻, 为非急诊手术. 根据患者手术类型进行临床分组, 其中观察组手术中PANP, 对照组手术中非PANP. 观察组40例, 男性26例、女性14例, 年龄62-81岁, 平均年龄 68.7 ± 11.4 岁. 采用Ducks肿瘤分期, 其中A期5例、B期26例、C期9例. 患者平均肿瘤直径 2.7 ± 0.8 cm; 对照组36例, 男性25例、女性11例, 年龄60-79岁, 平均年龄 68.2 ± 11.6 岁. 采用Ducks肿瘤分期, 其中A期3例、B期29例、C期4例. 患者平均肿瘤直径 3.0 ± 1.1 cm. 对两组患者的性别、年龄、肿瘤分期等

表 1 两组患者术后排尿功能情况比较

分组	n	近期排尿异常		远期排尿异常	
		n	%	n	%
观察组	40	7	17.50 ^a	0	0 ^a
对照组	36	17	47.22	2	5.56

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

一般资料进行比较, 发现两组间差异并无统计学意义($P > 0.05$), 说明两组患者具有临床可比性.

1.2 方法 观察指标: (1)排尿功能: 排尿功能异常可分为近期以及远期异常^[5], 若患者术后1 wk还不能进行自主排尿, 即可诊断为近期排尿异常; 若患者术后6 wk还未能恢复自主排尿, 则可诊断为远期排尿异常; (2)术后随访: 每位患者出院后均进行跟踪随访, 随访每1年1次, 总期限为3年或至患者死亡. 记录1年、3年患者的肿瘤复发率以及死亡率; (3)生活质量评估采用抑郁量表(self-rating depression scale, SDS), 其中轻度抑郁: 53-62分; 中度抑郁: 63-72分; 重度抑郁: > 72 分; 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS), 其中轻度焦虑: 50-59分; 中度焦虑60-69分; 重度焦虑 ≥ 70 分; 自尊评价(self esteem, SES), 总分范围为10-40分, 分值越高, 表明自尊程度越高. 于最后1次随访时由患者进行评分.

统计学处理 应用SPSS14.0软件. 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 均数比较采用 t 检验、方差因素分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者术后排尿功能情况比较 观察组患者近期排尿异常率为17.50%, 远期排尿异常率为0%. 而对照组患者近期排尿异常率为47.22%, 远期排尿异常率为5.56%. 两组患者进行统计学分析, 发现近期、远期排尿异常率均有统计学意义($P < 0.05$, 表1).

2.2 两组患者的SAS、SDS、SES评分比较 SAS、SDS得分越低, 说明心理状态越好; SES得分越高, 说明自尊水平越高. 观察组的平均SAS、SDS、SES评分均优于对照组($P < 0.01$, 表2).

3 讨论

直肠癌的发病呈快速上升趋势, 晚期直肠癌会引起癌细胞的广泛转移以及肠梗阻等症状的出现,

表 2 两组患者的焦虑自评量表、抑郁量表、自尊评价评分比较 (mean ± SD)

分组	n	焦虑自评量表	抑郁量表	自尊评价
观察组	40	36.64 ± 4.27 ^a	32.84 ± 3.21 ^a	24.45 ± 4.2 ^a
对照组	36	42.37 ± 4.35	39.43 ± 3.92	18.54 ± 3.2

^aP<0.05 vs 对照组.

影响机体的各项生理功能^[6,7]. 饮食中脂肪成分增多而粗纤维成分减少是大肠癌重要的诱因^[8]. 手术治疗是本病治疗的重要方式, 在根治肿瘤的同时, 又要尽可能地保留盆腔脏器的功能. 目前, 随着腹腔镜的广泛应用, 为直肠癌手术中保留PANP创造了更好的条件. 腹腔镜手术创伤小, 解剖精准, 减小副损伤, 提高术后生存质量及远期生存率^[9]. 盆腔内的自主神经主要分为交感神经、副交感神经两类^[10-12], 在大脑皮层的控制之下, 盆腔内的自主神经主要参与排尿功能与性功能的调控^[13,14].

本次结果发现, PANP患者近期、远期排尿功能均未受到明显干预, 患者自主排尿功能均能在较短时间内恢复. 当术后6 wk时, 患者的自主排尿功能均自行恢复. 而在非PANP患者中, 有近一半的患者(47.83%)的术后1 wk内自主排尿功均受到了不同程度的影响, 虽然大多数患者自主排尿功能逐渐出现好转, 但仍有5.80%的患者长期排尿功能恢复欠佳. 本研究结果验证了保留盆腔自主神经功能对排尿功能的重要影响^[15]. 因此, 在手术中, 如患者情况允许, 应该尽量对盆腔自主神经进行保留, 以减少术后排尿功能等并发症的出现. 具体注意: (1)髂前间隙以及男性的精囊后方, 是手术操作过程中最易损伤神经丛的部位. 因此, 在处理上述部位时, 当在盆筋膜的浅面进行操作时注意不要将盆筋膜从骶骨上掀起; (2)在男性患者的手术过程中, 特别需要在分离到膀胱直肠间隙时, 保留前列腺包膜的完整性; (3)处理直肠侧韧带时, 尽量远离骨盆的侧壁, 防止手术对盆神经丛的损伤. 由于盆腔自主神经主要由上腹下神经丛、腹下神经和下腹下神经丛(即盆丛)3部分组成, 实施手术时如何进行神经保护性处理非常关键. 具体为: 对于上腹下神经丛主干的保护, 要于结扎处理肠系膜下动脉时, 离开根部1 cm左右. 对于腹下神经的保护, 在脏层筋膜和壁层筋膜的疏松间隙中实施分离则可防止对于两侧腹下神经损伤. 而对于下腹下神经丛(即盆丛)的保护, 应让施术者或

者其助手用力适度, 以防止过度牵拉从而将盆丛牵离盆壁变形从而误认为是直肠侧韧带切断或者导致神经撕裂.

本研究对两组患者的SAS、SDS、SES得分进行分析, 观察组患者SAS、SDS平均得分均显著低于对照组($P<0.05$), SES平均得分均显著高于对照组($P<0.01$). 充分说明观察组患者的心理情绪明显好于对照组, 提示观察组患者的生存质量好于对照组. 这从另一个方面说明, PANP患者明显提高了心理满意度, 从而一定程度上改善生活质量.

总之, 腹腔镜下中低位直肠癌手术中PANP能够降低患者术后排尿功能异常, 有效的改善患者生存质量, 有广阔的临床推广前景.

4 参考文献

- Kauff DW, Kempinski O, Huppert S, Koch KP, Hoffmann KP, Lang H, Kneist W. Total mesorectal excision--does the choice of dissection technique have an impact on pelvic autonomic nerve preservation? *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 1218-1224 [PMID: 22450951 DOI: 10.1007/s11605-012-1870-1]
- 张军, 丁海涛, 韩智君. 保留盆腔自主神经对老年男性直肠癌TME术后性功能和泌尿功能的影响. *中国老年学杂志* 2012; 32: 2512-2513
- 王亚国, 钱军. 保留盆腔自主神经对男性直肠癌TME术后性功能和排尿功能的影响. *蚌埠医学院学报* 2012; 37: 920-922, 924
- Heald B. Autonomic nerve preservation in rectal cancer surgery --the forgotten part of the TME message a practical "workshop" description for surgeons. *Acta Chir Jugosl* 2008; 55: 11-16 [PMID: 19069687 DOI: 10.2298/ACI0803011H]
- 孙庆旭, 严茂军. 保留盆腔植物神经直肠癌根治术对术后性功能和排尿功能的影响. *中外医疗* 2011; 30: 18-19
- 张佳佳, 赵雯红. 腹腔镜保留盆腔自主神经的宫颈癌根治性手术的研究进展. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 313-316
- 牛鸣, 朱军民, 郭广敏. 保留盆腔自主神经的全直肠系膜切除术与双吻合器技术在低位直肠癌患者保肛手术中的临床应用. *中国老年学杂志* 2011; 31: 693-695
- Kauff DW, Koch KP, Somerlik KH, Heimann A, Hoffmann KP, Lang H, Kneist W. Online signal processing of internal anal sphincter activity during pelvic autonomic nerve stimulation: a new method to improve the reliability of intra-operative neuromonitoring signals. *Colorectal Dis* 2011; 13: 1422-1427 [PMID: 21087387 DOI: 10.1111/

■同行评价

本文对照研究40例PANP和36例非PANP的3年疗效(包括复发率、死亡率和生活质量等), 有一定工作量, 具有一定指导意义.

- j.1463-1318.2010.02510.x]
- 9 耿长辉, 王锡山, 张雅芳, 陈英罡, 候海峰. 功能性直肠癌扩大根治术对男性性功能的影响. 中华实验外科杂志 2011; 28: 1492-1494
- 10 马晓龙, 刘庆国, 顾全凯, 袁庆鑫. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术对排尿及性功能的影响. 现代预防医学 2012; 39: 1855-1856, 1858
- 11 刘伟, 安杰, 张超, 侯会池, 李志. 腹腔镜下直肠癌D3根治术中保留盆腔自主神经的临床研究. 中国现代普通外科进展 2012; 15: 12-14, 21
- 12 陈斌, 林奎生, 陈进渠, 蒲斌, 洪慧东. 保留盆腔自主神经在男性直肠癌根治术的临床研究. 中国综合临床 2011; 27: 1316-1318
- 13 惠希增, 宋世德, 郑海燕, 秦朝阳, 李龙, 郑志伟, 解涛, 刘显宾. 男性直肠癌直肠系膜切除术中保留盆腔自主神经对排尿及性功能影响的研究. 中华泌尿外科杂志 2010; 31: 489-492
- 14 Kneist W, Kauff DW, Koch KP, Schmidtman I, Heimann A, Hoffmann KP, Lang H. Selective pelvic autonomic nerve stimulation with simultaneous intraoperative monitoring of internal anal sphincter and bladder innervation. *Eur Surg Res* 2011; 46: 133-138 [PMID: 21311193 DOI: 10.1159/000323558]
- 15 张超, 王攀, 余佩武. 腹腔镜保留盆腔自主神经直肠癌根治术的发展现状. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 794-796

编辑 田滢 电编 鲁亚静



血管活性肠肽瘤1例

张丽平, 吴会超, 罗兰

张丽平, 吴会超, 罗兰, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

张丽平, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究工作。

贵州省科技厅社会攻关计划基金资助项目, No. SY[2010]3085

作者贡献分布: 本文写作和查阅相关文献由张丽平完成; 诊断思路及指导修改文章由吴会超完成; 罗兰协助治疗。

通讯作者: 吴会超, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市, 遵义医学院附属医院消化内科。 wuhuichao985@163.com

收稿日期: 2013-05-30 修回日期: 2013-06-24

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-07-28

Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report

Li-Ping Zhang, Hui-Chao Wu, Lan Luo

Li-Ping Zhang, Hui-Chao Wu, Lan Luo, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Guizhou Province, No. SY[2010]3085

Correspondence to: Hui-Chao Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. wuhuichao985@163.com

Received: 2013-05-30 Revised: 2013-06-24

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-07-28

Abstract

Vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor (VIPoma) of the pancreas is a rare type of pancreatic endocrine neoplasm. The main clinical features of VIPoma include large amount of watery diarrhea, hypokalemia and achlorhydria. Due to extreme rarity of this disease, it is easily misdiagnosed. Here we report such a case to raise the awareness of this clinical entity. We also performed a review of the literature to summarize its clinical manifestations, diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: VIPoma; Watery diarrhea; Hypokalemia; Diagnosis

Zhang LP, Wu HC, Luo L. Pancreatic vasoactive intestinal polypeptide-secreting tumor: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(21): 2117-2120 URL: <http://www.wjgnet.com>

www.wjgnet.com/1009-3079/21/2117.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2117>

摘要

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumors, VIPomas)是罕见的胰腺内分泌肿瘤。临床上以大量水样腹泻, 顽固性低血钾, 胃酸缺乏为主要特征性表现。此病非常罕见, 临床上较易误诊。本文报道血管活性肠肽瘤1例, 通过病史及实验室、影像学、内镜学、组织学检查结合相关文献进行分析讨论, 提高对该病的认识。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管活性肠肽瘤; 水样腹泻; 低钾血症; 诊断

核心提示: 本文报道血管活性肠肽瘤1例, 通过病史及实验室、影像学、内镜学、组织学检查结合相关文献进行分析讨论, 提高对该病的认识。

张丽平, 吴会超, 罗兰. 血管活性肠肽瘤1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(21): 2117-2120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2117.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i21.2117>

0 引言

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumors, VIPomas)是一组定义明确的罕见的胰腺内分泌肿瘤, 该病每年的发病率为千万分之一。平均发病年龄为49岁。该病也称为胰性霍乱、Verner-Morrison综合征, 其典型临床表现是水样腹泻、低钾血症、低/无胃酸, 因此也称为WHDA综合症[Watery (secretory) diarrhea, hypokalemia, and achlorhydria]。下面就本院收治的1例VIPoma患者做简要的诊断分析, 旨在提高临床医生对该病的认识。

1 病例报告

本院病例资料, 48岁女性患者, 因“反复腹泻

■背景资料

血管活性肠肽瘤(vasoactive-intestinal polypeptide-secreting tumor, VIPoma)是一种临床上罕见的疾病, 发病率低, 大量水样腹泻、低血钾、低/无胃酸综合征为其典型表现, 极易误诊。

■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

■ 相关报道

VIPoma在全世界已报道800多例,人群中发病率为千万分之一,病变主要位于胰尾部,50%-60%的患者发现时已转移,最常见转移至肝脏。

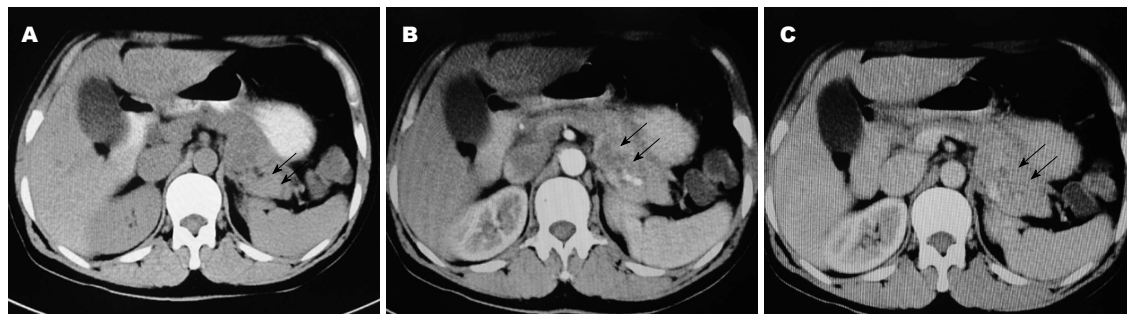


图1 上腹CT平扫+增强. A: 下腹CT平扫胰腺尾部占位, 箭头所示胰腺尾部边缘清晰, 与正常胰腺组织密度接近, 内部密度不均匀的肿块; B: 下腹部增强CT动脉期胰腺占位, 箭头所示动脉期肿块不均匀增强, 明显高于正常胰腺组织; C: 下腹部增强CT静脉期胰腺占位, 箭头所示静脉期肿瘤组织与正常胰腺组织密度接近。

2年”入院, 2年来无明显诱因出现腹泻, 黄稀便, 2-3次/d, 量少, 无腹痛腹胀, 无恶心呕吐, 有自愈倾向, 无关节疼痛. 于多家医院以“慢性胃肠炎”对症治疗可好转, 期间病情间断发作. 2012-12-30上述症状再发加重, 腹泻次数增至10次/d, 黄稀便, 无黏液脓血便, 伴纳差, 恶心呕吐, 反酸、嗝气、乏力. 无皮肤潮红、瘙痒, 无腰背部疼痛, 无呕血, 黑便, 无胸闷胸痛, 对症治疗无明显好转, 后以“慢性结肠炎、慢性胃炎”收入我院消化科. 患者精神, 饮食, 睡眠欠佳. 自发病起体重减轻5 kg, 小便正常. 否认“肝炎, 结核, 伤寒”等传染疾病史, 否认“高血压, 糖尿病, 高血脂”等病史. 查体: 全身皮肤黏膜干燥, 口唇脱皮. 腹软, 无压痛, 反跳痛及肌紧张, 肝脾未触及, 未扪及包块, 肠鸣音正常. 实验室检查: 血常规: WBC $10.27 \times 10^9/L$, RBC $4.34 \times 10^{12}/L$, HGB 137 g/L, PLT 344×10^9 . 电解质: 钾2.23 mmol/L, 磷0.77 mmol/L, 血糖7.34 mmol/L; 肝肾功能未见异常. 每日监测电解质: 钾2.28-4.16 mmol/L(3.5-5.5 mmol/L)之间, 磷0.38-1.18 mmol/L(0.84-1.82 mmol/L)之间. 复查空腹及餐后血糖分别为: 4.42 mmol/L(3.89-6.11 mmol/L)和7.00 mmol/L(3.89-7.8 mmol/L). CA199、CEA、NSE、AFP、CA125均在正常范围. 游离三碘甲状腺原氨酸、游离甲状腺素、促甲状腺激素正常. 大便常规+潜血, 大便细菌培养阴性. 全段甲状旁腺激素8.5 pmol/L(0.7-8.5 pmol/L), 昼夜皮质醇, 醛固酮, 人生长激素, 泌乳素L均未见异常. 24 h尿微量白蛋白: 6 mg/24 h. 放免法测得腹泻时查血浆血管活性肠肽: 260.6 pg/mL, 腹泻间歇期35.625 pg/mL(正常2.0-36.8 pg/mL). 影像学检查: 胸部平片、腹部彩超未见异常. 上腹CT平扫+增强(图1): 肝左外叶侧段见约30 mm×27 mm稍低密度影, 增强扫描动脉期未见强化, 静

脉期边缘结节状强化, 余肝内见多个小类圆形无强化低密度区. 胰尾后部见一大小约27 mm×31 mm密度不均肿块, 增强扫描不均匀强化. 意见: (1)肝左叶外侧段血管瘤, 肝内多发小囊肿; (2)胰尾肿瘤(胃泌素瘤?); (3)双侧少量胸腔积液. 心电图提示ST-T改变. 心脏彩超: 左房左室饱满; 二尖瓣, 三尖瓣轻度返流, 心包微量积液, 左心室功能正常, 心包积液. 内镜学表现: 胃镜: 慢性浅表性胃炎. 肠镜: 所见回肠末端、结肠黏膜未见明显器质性病变. 超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS)(图2): 胰腺尾部可见2.55 cm×3.32 cm类圆形低回声区, 边界清楚, 内部回声均匀. 胰腺头体部未见异常, 胰管不扩张. 血管分布走向清晰, CDFI低回声区内可见条点状血流信号. 治疗: 入院后予常规蒙脱石散、复方消化酶等止泻药物、纠正低钾血症等对症治疗, 仍出现顽固性低钾不能纠正, 结合CT及EUS结果, 顽固性低钾考虑血管活性肠肽瘤可能性大. 予生长抑素类似物奥曲肽0.1 mg皮下注射Q 12 h试验性治疗, 腹泻停止, 血钾纠正. 停用奥曲肽2 d后, 再次出现腹泻, 3次/d, 为水样便. 待患者低钾纠正后, 2013-01-28于我院行胰尾切除+脾切除术+肝左外叶血管瘤切除术, 术中胰体尾部可触及一包块, 直径约5 cm, 活动, 与周围组织无粘连. 术后患者即停止腹泻, 查电解质未见异常. 术后第3天查血浆血管活性肠肽131.7 pg/mL. 病理结果(图3A): (1)肝海绵状血管瘤; (2)脾脏呈淤血性改变, 部分区域被膜下淋巴管扩张; (3)胰腺高分化内分泌肿瘤>2 cm, 行为不确定性高分化内分泌肿瘤. 免疫组织化学CD10(-), CD56(弱+), CK7(-), CK8(+), CgA(个别+), NSE(+); Syn(+), VIP(++)(图3B). 术后患者即停止腹泻, 查电解质未见异常. 术后第3天查血浆血管活性肠肽131.7 pg/mL. 随访: 术后2 mo因多浆膜腔(心包, 胸腔,



图2 超声内镜. A: 超声内镜下胰腺内分泌肿瘤; B: 肿块位于胰腺尾部, 箭头所示胰腺尾部低回声团块, 边缘清晰, 与周围组织界线清楚; C: 胰腺肿块血流图.

应用要点

对于禁食72 h腹泻仍不能缓解的大量水样腹泻, 难治性低钾血症, 糖耐量异常的患者应高度怀疑该病, 同时结合血浆血管活性肠肽(vasoactive-intestinal polypeptide, VIP)水平、影像学、内镜检查明确诊断, 并予以手术治疗, 可降低误诊率.

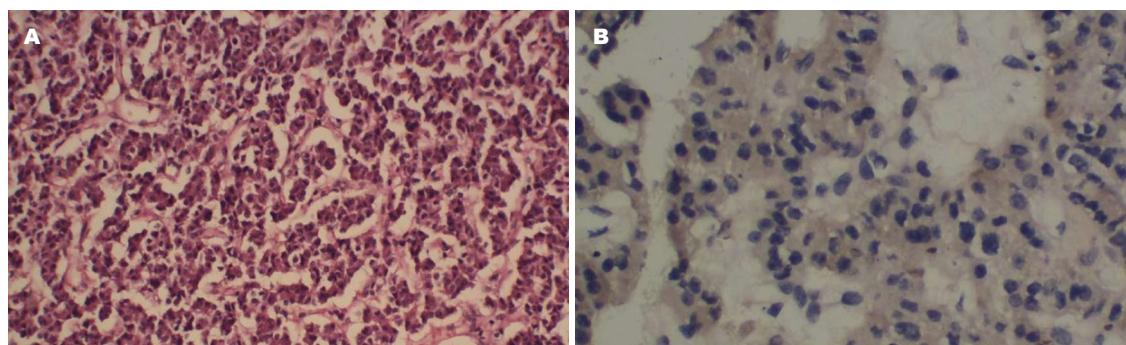


图3 病理结果及免疫组织化学结果. A: 血管活性肠肽瘤(HE × 200); B: 免疫组织化学提示VIP表达在血管活性肠肽瘤细胞胞浆(× 400).

腹腔)积液再次就诊于我院, 查白蛋白33.3 g/L, 血钾4.16 mmol/L. 复查胸部CT及腹部CT平扫+增强可见多浆膜腔积液, 未见转移病灶. ECT未见骨转移, 多浆膜腔积液原因考虑术后低蛋白血症所致.

2 结果

第1例VIPoma是1958年由Verner和Morrison首次报道的, 迄今全世界已报道有800多例^[1]. 血管活性肠肽(vasoactive-intestinal polypeptide, VIP)可促进胰液、小肠液的产生和分泌, 大量VIP分泌解释了水样腹泻, 脱水, 低血钾, 酸中毒等症状. VIP亦可抑制胃酸分泌, 致低/无胃酸. 刺激肝糖原的释放, 导致血糖增高; 舒张外周血管, 致血压降低, 脸色潮红. 部分患者出现高血钙, 低磷血症与VIP促进甲状旁腺激素分泌有关^[2].

VIPoma术前较难诊断, 易与导致腹泻的全身性、炎症性及器质性疾病混淆, 本院该患者即以肠炎治疗2年之久, 但入院后查甲状腺功能、血糖、胃肠镜、腹部CT及大便培养、血清CEA、CA125等实验室检查已予排斥. 根据该病的典型临床表现结合放免法测血浆VIP是术前最重要

的定性依据, 腹泻时超过正常值上限2倍即可诊断, 但因VIP为非持续性分泌, 因此需多点多次检测. 本院该患腹泻时测得血管活性肠肽260.6 pg/mL(可能与腹泻不严重有关), 但仍高于腹泻间隙35.625 pg/mL. 术后第3天血管活性肠肽131.7 pg/mL, 已缓慢下降. 血浆VIP也是评价术后是否复发、手术是否彻底的重要指标. 术后病理学及免疫组织化学也是另一重要的定性方法, 并且现今在病理学的基础上对评价内分泌肿瘤的性质及预后有了重要发展. 使用免疫组织化学KIT/CK19进行危险度分级, 低度危险(KIT-/CK19-), 中度危险(KIT+/CK19-), 高度危险(KIT+/CK19+). Zhang等^[3]对于97例有完整资料的胰腺内分泌肿瘤进行病理形态学和临床结果分析; 高度危险组中肿瘤的大小, 核分裂像, 肿瘤性坏死和肿瘤边缘情况等参数均高于低度危险组. 该作者提出了新的3级分级系统(1级: 0和1分、2级2分、3级3和4分)评价胰腺内分泌肿瘤, 根据核分裂像(0分: 0/50 HPE、1分1-3个/50 HPE、>4个/50 HPE)、肿瘤性坏死(0分: 无坏死、1分: 有坏死)、肿瘤边缘浸润(0分: 无浸润、1分: 有浸润). 结合KIT/CK19免疫组织化学结果, 能更好地评价胰腺内

■同行评议

该病例也叫胰腺内分泌肿瘤,发病率较低,其临床表现较特殊,应该引起临床医师,特别是消化科医师的高度重视。

分泌肿瘤的性质。不过遗憾的是,本患者的病理学检查没有进一步的描述。

B超和CT是VIPoma术前定位的主要方法,大部分胰腺内分泌肿瘤是高度富血管性的,主要位于胰尾部,与正常组织分界清,增强CT扫描强化明显,少数为少血管性;而胰腺癌是少血管性肿瘤,CT增强扫描密度增加不明显,因此CT对于两者的鉴别有重要价值。同时CT还可了解肿块的大小,数量,及周围组织浸润,远处转移及淋巴结侵犯等情况。B超对于<2 cm的胰腺占位诊断不明,该患者行B超检查即未发现胰尾部占位,可能与肠腔气体干扰有关。EUS对于诊断<2.5 cm的内分泌肿瘤的敏感性为82%,发现最小的病变为2 mm,是目前定位诊断最有效的手段^[4]。生长抑素闪烁成像依赖于生长激素受体表达,80%-90%该受体表达阳性,因此在大部分患者中有效。

外科手术切除是治疗本病的根本方法。生长抑素类似物(奥曲肽)是缓解症状的最有效手段,且对于发生远处转移的患者,也可减小肿块体积,改善体内激素水平和症状。生长抑素类似物也用于术前诊断及术前准备,但长久应用将会导致耐药性产生。干扰素- α 、糖皮质激素也可改

善治疗效果。

虽然VIPoma的主要治疗方式是外科手术,但该病误诊率极高,该患者从出现症状到明确诊断长达2年。因此,临床医生在碰到难治性,反复发作性腹泻,伴有顽固性低钾血症,糖耐量异常的患者应警惕该病,早期诊断可明显提高该病的生存率与预后。

3 参考文献

- 1 Peng SY, Li JT, Liu YB, Fang HQ, Wu YL, Peng CH, Wang XB, Qian HR. Diagnosis and treatment of VIPoma in China: (case report and 31 cases review) diagnosis and treatment of VIPoma. *Pancreas* 2004; 28: 93-97 [PMID: 14707737]
- 2 Ghaferi AA, Chojnacki KA, Long WD, Cameron JL, Yeo CJ. Pancreatic VIPomas: subject review and one institutional experience. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 382-393 [PMID: 17510774]
- 3 Zhang L, Lohse CM, Dao LN, Smyrk TC. Proposed histopathologic grading system derived from a study of KIT and CK19 expression in pancreatic endocrine neoplasm. *Hum Pathol* 2011; 42: 324-331 [PMID: 21190722 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.09.002]
- 4 Rösch T, Lightdale CJ, Botet JF, Boyce GA, Sivak MV, Yasuda K, Heyder N, Palazzo L, Dancygier H, Schusdziarra V. Localization of pancreatic endocrine tumors by endoscopic ultrasonography. *N Engl J Med* 1992; 326: 1721-1726 [PMID: 1317506]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/ml应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象、应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈洪 主任医师
东南大学附属中大医院消化科

陈汝福 教授
中山大学第二附属医院肝胆胰外科

程英升 教授
同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜祥 教授
上海复旦大学附属肿瘤医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭俊明 教授
宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

刘成海 研究员
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

吴建兵 教授
南昌大学第二附属医院肿瘤科

徐健 副主任医师
深圳市慢性病防治中心

徐庆 教授
桂林医学院药理教研室

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

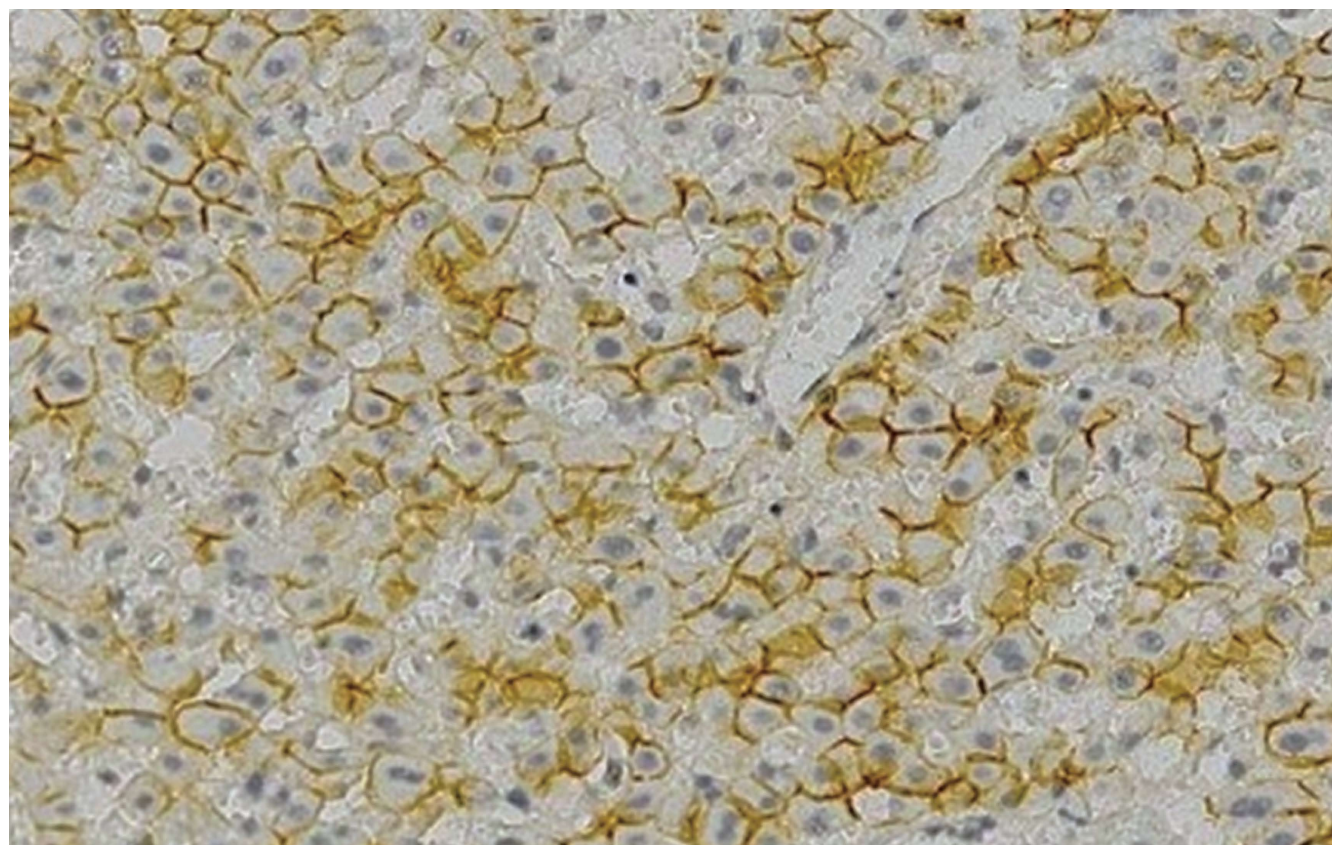


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 8 月 8 日 第 21 卷 第 22 期 (Volume 21 Number 22)



22 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年8月8日 第21卷 第22期 (总第426期)

述 评	2121 硫唑嘌呤治疗炎症性肠病诱发淋巴瘤 罗凤燕, 白爱平
基础研究	2128 <i>PLK1</i> 基因RNAi慢病毒载体的构建及对食管鳞癌细胞侵袭转移的影响 于文静, 张宝刚, 陈丽梅, 王守训, 冯卫国, 杜长青, 刘顺梅, 赵春玲 2136 PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤中NF- κ B表达的影响 谢文瑞, 杨元生, 杨新魁, 陈垦, 陈婧华, 崔淑兰, 王晖 2143 miR-30d反义核苷酸对结肠癌细胞增殖及凋亡的影响 张善忠, 周毅, 刘芬, 汪志飞, 万冰
文献综述	2151 肾素-血管紧张素系统在肝纤维化中作用的研究进展 李爽 2158 细胞周期素依赖性激酶、细胞周期调控与肝纤维化 吴丹, 谷秋红, 李智伟 2164 尾加压素在肝硬化中的研究进展 梁冬雨, 侯彦强, 姜晓丽, 叶长根 2169 T细胞免疫球蛋白黏蛋白3与消化系统炎症疾病的关系 余婧, 谢勇
研究快报	2176 通过测定不同途径5-FU化疗后家兔门静脉血及组织中的药物浓度比较各途径的化疗效果 杨建武, 姜福全, 江文俊, 黄玉玲, 崔彦 2181 脂多糖对肝内胆管上皮细胞MUC5AC表达的影响 李敏, 田雨, 吴硕东, 李勇男 2185 原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义 蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军 2192 抗TNF α 单链抗体复制缺陷型腺病毒载体的构建及表达 卓萌, 唐余燕, 余永胜, 周丽芹, 潘庆春, 王鹏, 臧国庆, 汤正好
临床经验	2198 <i>SASH1</i> 基因在食管鳞癌中的表达及临床意义 刘秋菊, 贺远龙, 刘红云, 卫红军, 许琳, 王青 2202 胃左动脉灌注化疗/栓塞治疗晚期贲门癌70例 李玉红, 杨宏, 艾建中, 丁君超, 闫玉川 2206 <i>HLA-DP</i> 基因多态性与乙型肝炎重症化的关联性 姚津剑, 余金玲, 里进, 陈曼, 杨红, 宋起龙, 林菊生 2212 胆囊区肝癌射频治疗联合LC手术安全性评估 赵希学, 由法平, 袁庆忠, 潘国政, 卜庆教, 郝龙, 张建 2217 床边急诊ERCP在重症急性胆源性胰腺炎治疗中的应用16例 袁帅, 孙大勇 2221 英夫利昔单抗联合肠内营养在治疗中重度克罗恩病中的临床优势 吴高珏, 龚镭, 胥明, 朱颖炜 2228 SLP-2在结肠癌中的表达 张剑, 吴敏, 王利娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂, 邢鑫 2232 两种穿刺置管术治疗消化系统肿瘤患者并发症的比较 王晓龙, 张成武, 缪巍, 刘宁, 王成, 马晓明, 马新福
病例报告	2237 肺肉瘤样癌回肠转移并出血坏死1例 荣万水, 王云帆, 于明川

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2127 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2135 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2150 《世界华人消化杂志》出版流程 2157 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2163 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2175 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2180 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2205 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2211 WJG成功通过评审被PMC收录 2216 《世界华人消化杂志》栏目设置 2227 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2236 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2240 《世界华人消化杂志》正文要求
封面故事	蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李 宏, 李玉军. 原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2185-2191 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2185
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-08-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

August 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 22

EDITORIAL	2121 Risk of lymphoma after treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine <i>Luo FY, Bai AP</i>
BASIC RESEARCH	<p>2128 Lentiviral-mediated RNA interference targeting the <i>PLK1</i> gene inhibits invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma cells <i>Yu WJ, Zhang BG, Chen LM, Wang SX, Feng WG, Du CQ, Liu SM, Zhao CL</i></p> <p>2136 PTD-NBD polypeptide down-regulates expression of NF-κB p65 in inflammatory pancreatic acinar cell injury in rats <i>Xie WR, Yang YS, Yang XK, Chen K, Chen JH, Cui SL, Wang H</i></p> <p>2143 A miR-30d antisense oligonucleotide inhibits proliferation and promotes apoptosis of colon cancer cells <i>Zhang SZ, Zhou Y, Liu Q, Wang ZF, Wan B</i></p>
REVIEW	<p>2151 Role of the renin-angiotensin system in liver fibrosis <i>Li S</i></p> <p>2158 Cyclin-dependent kinases, control of cell cycle and hepatic fibrosis <i>Wu D, Gu QH, Li ZW</i></p> <p>2164 Progress in understanding role of urotensin II in hepatic cirrhosis <i>Liang DY, Hou YQ, Lou XL, Ye CG</i></p> <p>2169 Role of Tim-3 in pathogenesis of inflammatory diseases of the digestive system <i>Yu J, Xie Y</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>2176 Different chemotherapy effects of 5-FU given via different routes of administration <i>Yang JW, Jiang FQ, Jiang WJ, Huang YL, Cui Y</i></p> <p>2181 LPS induces MUC5AC expression in human biliary epithelial cells <i>Li M, Tian Y, Wu SD, Li YN</i></p> <p>2185 Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma <i>Jiang YX, Yu WJ, Lin DL, Li H, Li YJ</i></p> <p>2192 Construction and identification of recombinant replication-defective adenovirus vector Ad/CMV/V5-DEST-TNFα-scFv <i>Zhuo M, Tang YY, Yu YS, Zhou LQ, Pan QC, Wang P, Zang GQ, Tang ZH</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>2198 Clinical significance of expression of <i>SASH1</i> in esophageal squamous cell carcinoma <i>Liu QJ, He YL, Liu HY, Wei HJ, Xu L, Wang Q</i></p> <p>2202 Left gastric arterial infusion chemotherapy and embolization for treatment of advanced gastric cancer: An analysis of 70 cases <i>Li YH, Yang H, Ai JZ, Ding JC, Yan YC</i></p> <p>2206 Association of a <i>HLA-DP</i> gene polymorphism with progression of HBV infection <i>Yao JJ, Yu JL, Li J, Chen M, Yang H, Song QL, Lin JS</i></p> <p>2212 Safety and effectiveness of radiofrequency combined with laparoscopic cholecystectomy in management of liver cancer near the gallbladder <i>Zhao XX, You FP, Yuan QZ, Pan GZ, Bu QA, Hao L, Zhang J</i></p> <p>2217 Application of bedside emergency ERCP in the treatment of severe acute biliary pancreatitis <i>Yuan S, Sun DY</i></p> <p>2221 Infliximab combined with enteral nutrition for management of moderate to severe Crohn's disease <i>Wu GJ, Gong L, Xu M, Zhu YW</i></p> <p>2228 Expression of SLP-2 in colorectal cancer <i>Zhang J, Wu M, Wang LJ, Zhang HQ, Shi GY, Ba N, Zhang ZS, Yan L, Zheng XK, Xing X</i></p> <p>2232 Clinical effect of improved subclavian vein catheterization versus internal jugular vein catheterization in patients with alimentary canal neoplasms <i>Wang XL, Zhang CW, Miu W, Liu N, Wang C, Ma XM, Ma XF</i></p>
CASE REPORT	2237 Ileal metastasis of pulmonary sarcomatoid carcinoma with hemorrhagic necrosis: A case report <i>Rong WS, Wang YF, Yu MC</i>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Jiang YX, Yu WJ, Lin DL, Li H, Li YJ.</i> Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(22): 2185-2191 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2185
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date August 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

硫唑嘌呤治疗炎症性肠病诱发淋巴瘤

罗凤燕, 白爱平

罗凤燕, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

罗凤燕, 主要从事炎症性肠病的相关研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81270472, 81070310

作者贡献分布: 本文综述由罗凤燕与白爱平完成; 白爱平负责审校。

通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, baiap@163.com

收稿日期: 2013-05-15 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Risk of lymphoma after treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270472, 81070310

Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com
Received: 2013-05-15 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic, non-specific inflammatory disease of the intestine, characterized by excessive activation of the immune system. Immunosuppressive therapy has been widely and effectively used in IBD patients. However, the occurrence of lymphoma after immunosuppressive therapy for IBD, especially azathioprine, has been recently reported. This article reviews the clinical application of azathioprine in IBD, the possible mechanisms responsible for lymphoma induction by azathioprine, and the assessment of benefit and risk of immunosuppressive therapy for IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Azathioprine; Lymphoma

Luo FY, Bai AP. Risk of lymphoma after treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine. *Shijie*

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(22): 2121-2127 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2121>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类肠道免疫系统过度激活引起的慢性非特异性炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD)。免疫抑制剂在IBD患者中广泛应用, 且对于IBD治疗有效, 但是这些药物诱发淋巴瘤的发生报道越来越多, 尤其以硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)为甚。AZA治疗IBD是否使淋巴瘤风险增加引起越来越多的关注。本文主要对于AZA在IBD临床应用、诱发淋巴瘤发生的可能机制、风险评估等进行讲述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 炎症性肠病; 硫唑嘌呤; 淋巴瘤

核心提示: 硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)诱导可使淋巴瘤发生风险增加, 但应用AZA治疗炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)利大于弊, 其诱导淋巴瘤发生的绝对风险低, 且可有效地维持缓解IBD患者, 降低IBD复发率及外科手术率。

罗凤燕, 白爱平. 硫唑嘌呤治疗炎症性肠病诱发淋巴瘤. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2121-2127 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2121>

0 引言

淋巴瘤是最早发现的血液系统恶性肿瘤之一, 其起源于淋巴结及淋巴组织, 可分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤两大类。硫唑嘌呤(azathioprine, AZA), 作为免疫抑制剂, 主要通过抑制T淋巴细胞来抑制免疫反应^[1,2], 因此可用于预防器官移植排斥反应^[3], 也可用于类风湿性关节炎^[4]、自身免疫性肝炎^[5]、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)^[6]等自身免疫性疾病的治疗。2000年国际IBD研究组织(International Organization for the Study of Inflammation)

■背景资料

近年来炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病率逐渐升高, 其药物治疗的不良后果已成为国内外学者及患者关注的热点之一。硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)治疗IBD后诱导淋巴瘤发生的临床报道越来越多, 评估AZA治疗后淋巴瘤发生风险及在IBD临床应用的利与弊, 对于该药在临床上应用有着重要的指导作用。

■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

■研究前沿

AZA诱导淋巴瘤报道逐年增多,而AZA诱导淋巴瘤发生风险及具体机制,如何预防及监测淋巴瘤发生,合并淋巴瘤发生后治疗等问题仍未完全阐明,需进一步研究。

表 1 硫唑嘌呤在炎症性肠病治疗适应证^[22]

分组	适应证
克罗恩病	维持缓解中重度克罗恩病(任何部位的疾病,特别是广泛的疾病) 维持缓解克罗恩病早期复发(经治疗后进入缓解期<3 mo)或频繁复发(每年2次以上) 瘘管克罗恩病(与抗生素合用,如果没有尽早抗TNF治疗或手术必要) 术后预防克罗恩病复发(除非高风险的情况下,如反复手术或当前吸烟者) 结合抗TNF制剂治疗严重克罗恩病(快速升阶梯或降阶梯治疗)
溃疡性结肠炎 (可联合5-氨基水杨酸治疗)	激素依赖性溃疡性结肠炎维持缓解治疗 需类固醇治疗的溃疡性结肠炎早期复发维持缓解治疗 需类固醇治疗的溃疡性结肠炎频繁复发维持缓解治疗 环孢素,他克莫司,或静脉注射类固醇激素诱导缓解溃疡性结肠炎的维持缓解治疗 急性或慢性难治性憩室炎

tory Bowel Disease, IOIBD)发起一项大规模对于免疫抑制剂在IBD的临床应用的研究^[7],报道了AZA治疗IBD患者所产生的不良反应,如诱发胰腺炎、淋巴瘤、白血病、结肠癌、肾癌等。近年来AZA治疗IBD诱导淋巴瘤发生的临床报道越来越多,IBD患者服用AZA是否可使淋巴瘤发生风险增加受到广泛关注。本文主要讨论AZA在IBD临床应用、代谢过程、药理学作用、是否增加淋巴瘤发生风险以及评估其在IBD应用的利与弊。

1 硫唑嘌呤的IBD临床应用及指征

AZA是否可诱导缓解溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD),不同的研究组有不一样的意见。一项基于AZA诱导缓解急性CD的5个随机对照试验^[8-12]和急性UC的2个随机对照试验^[13,14]的荟萃分析指出单独应用AZA能够成功诱导急性CD和UC的缓解仍缺乏足够的证据。而一项荟萃分析^[15]认为AZA可诱导缓解急性CD,其中指出AZA或6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)诱导缓解急性CD与安慰剂治疗比较,其OR值为2.43(95%CI: 1.62-3.64),需要治疗的人数(number needed to treat, NNT)大约为5,如果剔除6-MP治疗CD数,其OR值为2.06(95%CI: 1.25-3.39),但是过敏、白细胞减少症、胰腺炎和恶心等不良反应发生增加,OR值为3.44(95%CI: 1.52-7.77),NTT为14。然而其最近更新荟萃分析认为与安慰剂相比,AZA或6-MP对于活动性CD的诱导缓解或临床症状改善没有任何优势^[16]。Gisbert等^[17]进行一项荟萃分析,其中纳入30项非对照试验,AZA/MP诱导缓解UC平均疗效率为65%;而4项AZA/MP诱导缓解UC对照试验研究表明,平均疗效达

73%,对照组为64%,其OR值为1.59(95%CI: 0.59-4.29),故与对照组相比,仍不能认为AZA/MP可以有效地诱导缓解UC。因此大多数学者认为单独应用AZA不能有效地诱导缓解急性CD和UC患者。

一般认为AZA可有效地维持缓解CD和UC患者。最近一项更新荟萃分析^[18]指出AZA有效地维持缓解CD治疗,其Peto OR值为2.32(95%CI: 1.55-3.49),NNT为6,且高剂量AZA能够更好地维持缓解;同时报告对于类固醇依赖的CD患者,应用AZA并撤退类固醇激素可有效地维持缓解CD患者,Peto OR值为5.22(95%CI: 1.06-25.68),NNT为3。根据一项随机双盲对照试验^[19],建议AZA维持治疗CD持续时间应>3.5年。一项关于AZA治疗UC疗效的荟萃分析^[17]指出与安慰剂或5-ASA组相比,AZA可以有效地维持缓解UC,OR值为2.56(95%CI: 1.51-4.34)。Peyrin-Biroulet等^[20]意大利学者发起一项多中心观察性回顾研究,其中建议AZA维持缓解UC持续时间应>6 mo,而也有研究指出其持续时间应>18 mo^[21],故AZA治疗持续多久才能有效地维持缓解UC仍需进一步研究。AZA在IBD临床应用如表1所示^[22]。

2 硫唑嘌呤的代谢途径及药理作用

AZA发挥各种生物学效应,主要通过转变为有活性的6-硫鸟嘌呤核苷酸(6-Thioguanine nucleotide, 6-TGN)实现的。AZA代谢途径^[23]如图1所示,大约90%AZA在肝脏非酶作用下快速裂解转变为6-MP,6-MP经过以下复杂的生物转化转变为有活性或无活性的代谢产物:(1)6-MP经黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)催化形成6-巯尿酸(6-thiouric acid, 6-TU),最后由肾脏排出体外;(2)6-MP在巯基嘌呤甲基转移酶(thiopurine

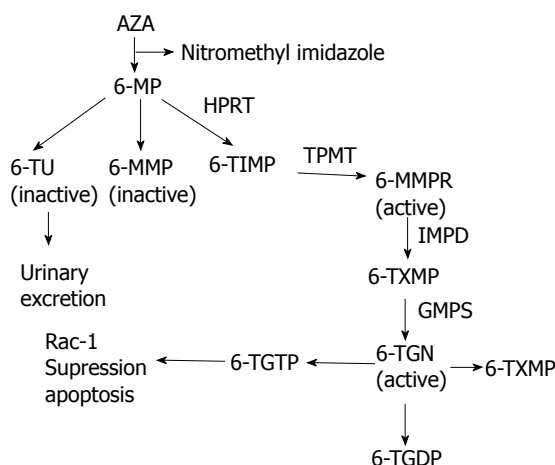


图1 硫唑嘌呤的代谢途径。AZA: 硫唑嘌呤; 6-MP: 6-巯基嘌呤; 6-TU: 6-硫尿酸; 6-MMP: 6-甲基巯基嘌呤; TIMP: 硫唑嘌呤甲基转移酶; 6-MMPR: 6-甲基-巯基嘌呤核苷; 6-TXMP: 6-巯基-黄嘌呤核苷-单磷酸盐; 6-TGN: 6-硫鸟嘌呤核苷酸; 6-TGDP: 6-硫代鸟嘌呤二磷酸; 6-TGTP: 6-硫代鸟嘌呤三磷酸; XO: 黄嘌呤氧化酶; TPMT: 巯基嘌呤甲基转移酶; HPRT: 次黄嘌呤磷酸核糖转移酶。

methytransferase, TPMT)甲基化作用变为非活性代谢物6-MMP; (3)此外, 6-MP可经次黄嘌呤磷酸酶(hypoxanthine phosphoribosyl transferase, HPRT)催化, 形成的第一个有活性的中间代谢产物单磷酸硫肌苷, 进一步催化形成6-TGN, 还可转变为6-硫代鸟嘌呤二磷酸(6-thioguanine diphosphate, 6-TGDP)和6-硫代鸟嘌呤三磷酸(6-thioguanine triphosphate, 6-TGTP)等。

一项前瞻性横断面研究^[24]指出6-TGN推荐治疗阈值 ≥ 235 pmol/ 8×10^8 红细胞, 且6-TGN水平低于或高于治疗阈值更可能分别与IBD活动期和缓解期有关。然而6-TGN溶度过高可使骨髓抑制风险增高^[25]。活性代谢6-TGN在细胞中缓慢累积, 发挥抗炎作用至少可能需10-12 wk, 故AZA一般不单独应用于急性UC和CD患者诱导缓解治疗^[26]。然而, 其具体药理作用机制仍未完全阐明。细胞内6-TGN可通过抑制DNA的合成和下游的T细胞增殖来抑制免疫反应^[27-29]。运用全基因组表达谱的方法^[30], 6-TGN被发现能抑制多种免疫和炎症相关的基因, 包括抑制活化T淋巴细胞肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体、肿瘤坏死因子受体超家族成员7、 $\alpha 4$ -整合素。另一份报告发现, AZA发挥免疫抑制作用部分是由于其代谢物6-TGTP抑制Rac1的蛋白质, Rac1参与T细胞的成熟和增殖, 从而诱导T淋巴细胞凋亡^[2]。

AZA诱导淋巴瘤、白血病、皮肤癌等恶性肿瘤发生, 其机制可能是: 6-TGN结构相似鸟嘌呤, 可掺入核糖核苷酸, 可能造成碱基的不稳

定、错配, 暴露于致突变因素如紫外线、氧自由基等后可能诱发基因突变, 他们也可能直接抑制细胞毒性T细胞和天然杀伤细胞的功能, 抑制细胞介导的免疫监视, 使得EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、人乳头瘤病毒等潜在感染的淋巴细胞大量增殖, 这将有助于发展淋巴组织增生性疾病及淋巴瘤^[31-33]。

3 硫唑嘌呤诱发IBD患者淋巴瘤的证据

3.1 IBD本身与淋巴瘤风险关系 一般认为IBD患者淋巴瘤的发病率与其他对照人群的发病率大致相同或略为增高^[34,35]。Lewis等^[34]进行回顾性队列研究, 其成功纳入了6605例CD患者和10391例UC患者, 对照组60506例, 与普通人群相比, 其相对危险度(relative risk, RR)为1.2, 95%CI: 0.67-2.06。Askling等^[35]开展大型群体前瞻性研究研究发现UC中淋巴瘤的标准化发病率为1.0(95%CI: 0.8-1.3), 而CD为1.3(95%CI: 1.0-1.6), 只在随访第一年呈边缘升高。最近一个荷兰研究小组报告进一步证实IBD患者淋巴瘤发病率与同地域的其他人群没有差别^[36]。目前只有一个研究指出IBD与淋巴瘤发生有关, 且限于男性CD患者, 其可能与参照偏移、非霍奇金淋巴瘤及霍奇金淋巴瘤在人群中发病率不同有关^[37]。

3.2 硫唑嘌呤诱导IBD病情缓解治疗 最近一项对于AZA诱导缓解急性CD患者疗效的荟萃分析^[16], 其中指出其主要不良反应为过敏反应, 白细胞减少症、胰腺炎和恶心, 但没有淋巴瘤报道, 这可能与AZA服用时间较短有关。由于AZA治疗4-6 mo可能也不能获得最大抗炎作用^[38], AZA一般较少单独用于急性UC和CD诱导缓解治疗, 因此对于AZA诱导缓解IBD患者是否可使淋巴瘤风险增加研究较少。

3.3 硫唑嘌呤维持IBD病情缓解治疗 一般认为AZA长时间维持缓解治疗IBD患者可使淋巴瘤发生风险增加。一项大型前瞻性研究^[39], 成功纳入IBD患者19486例, 其中CD 11759例、UC或未分型的IBD 7727例, 随访中位期为35 mo(29-40 mo), 其中连续接受AZA治疗的IBD患者5867例(30.1%), 间断接受AZA治疗2809例(14.4%), 未接受AZA治疗18810例(55.5%), 共确诊淋巴瘤23例, 其中22例为非霍奇金淋巴瘤, 对于连续接受AZA治疗的IBD患者, 每1000人年的淋巴瘤发生率为0.9(95%CI: 0.50-1.49), 间断接受AZA治疗每1000人年的淋巴瘤发生率为0.2(0.02-0.72), 而未接受AZA治疗每1000人年的淋巴瘤发生

■相关报道

国际IBD研究组织报道AZA可能诱发淋巴瘤, 但有研究报道其绝对风险低, AZA应用于临床利大于弊。

■创新盘点

本文以硫唑嘌呤治疗IBD患者中最危险的不良反应淋巴瘤着手,从硫唑嘌呤在IBD临床应用、诱发淋巴瘤发生的可能机制、风险评估及其在IBD临床应用的利与弊等方面进行了综述。

率为0.26(0.10-0.57),上述3组间存在显著差异($P<0.05$),且AZA治疗诱发淋巴瘤发生整体多元变量危险比为5.28(95%CI: 2.01-13.9);对于服用AZA, <50岁年龄组每1000人年淋巴瘤发生率为0.37%,而>65岁年龄组为5.41。前期研究结果表明AZA治疗IBD患者可使淋巴瘤发生风险增加,且如果患者不再服用AZA,淋巴瘤的发病率与从来没有AZA治疗的患者相比没有明显增高,淋巴瘤发生风险增加可能还与年龄有关。

包括6个队列研究的荟萃分析^[40]认为长期服用AZA治疗使得淋巴瘤风险增加,且年龄对于淋巴瘤发生率有影响,研究中发现淋巴瘤11例,而预期数为2.63例,因此集中标准化率(standardized incidence ratios, SIR)为4.18(95%CI: 2.07-7.51);其中敏感性分析指出排除对于集中相对危险度影响较小的研究,重新计算得出SIR(3.49-5.21);且发现年龄对于淋巴瘤发生率有影响,年龄越大,淋巴瘤发生率越高,从20-29岁大约为1/4357至70-79岁为1/355。

研究指出长期服用AZA维持缓解治疗IBD诱导淋巴瘤发生,大部分病例病理组织学上与移植术后淋巴瘤表现一致,主要来源于B细胞,且60%-70%的病例是EB病毒阳性^[39],约5%移植术后淋巴瘤来源于T细胞和T/NK细胞^[41],这可能与AZA抑制免疫监视功能,使得潜在EBV感染细胞克隆性增殖有关。EBV阳性淋巴瘤和AZA明显相关性在荷兰最近的一项全国性研究中也观察到^[36]。这都为AZA使淋巴瘤风险增加提供了证据。

3.4 硫唑嘌呤治疗后停药 有报道指出长期服用AZA治疗IBD并发淋巴瘤后停药4 wk后淋巴瘤明显好转,1年后淋巴瘤完全消退^[42]。在系统性红斑狼疮合并淋巴瘤患者也发现停用AZA后淋巴瘤消退^[43]。一项法国多中心的荟萃分析指出患者不再服用AZA,淋巴瘤的发病率与从来没有AZA治疗的患者相比没有明显增高^[39]。停止AZA后淋巴瘤消退这一现象可能与停药后免疫功能得以恢复有关。然而,IBD合并淋巴瘤患者停用AZA后淋巴瘤消退临床报道较少,故仍需进一步研究。

4 硫唑嘌呤临床应用利与弊

AZA虽有众多不良反应,如急性胰腺炎、白细胞减少、白血病、皮肤癌,然而,与未服用者相比,整体恶性肿瘤发生率并没有增高^[44]。AZA可能使淋巴瘤发生风险增加约4倍^[40],但早期长期

AZA治疗IBD有着较大有益作用,能够有效地维持缓解及预防IBD复发,并可降低外科手术率。

有报告指出对于儿童IBD患者,早期更系统的AZA治疗可以使得缓解时间延长2倍^[45]。来自匈牙利的成人IBD患者队列研究报告AZA治疗长期疗效与疾病行为的变化和切除手术风险降低是独立相关的。他还防止吸烟的有害影响^[46,47]。这也在美国一项回顾性队列研究中得到证实^[48],非穿通性非炎症性CD患者使用AZA时间超过6 mo,其外科手术风险危险比(hazard ratio, HR)为0.41(95%CI: 0.21-0.81)。为了研究停用AZA后IBD复发,有一项研究纳入缓解期CD患者66例,发现停用AZA后在36 mo内32例患者疾病复发,且复发患者中23例重新给予AZA治疗仅1例获得临床缓解^[49]。一项多中心回顾研究^[50]进一步证实维持缓解及预防UC复发,并可降低外科手术率,127例缓解期UC患者,随访中位数为55 mo,发现停用AZA后1年复发率为1/3,2年为1/2,而5年疾病均复发,疾病复发预测因素与缺乏AZA维持缓解治疗(HR: 2.350, 95%CI: 1.434-3.852)及治疗持续时间(3-6 mo短期治疗比>48 mo治疗更不利, HR: 2.783, 95%CI: 1.267-6.114)有关;停用AZA后结肠切除率为10%,且其预测因素与停用AZA引起的药物相关不良反应有关,而与服用AZA后不良反应和持续时间无关。使用马尔可夫模型的一项决策分析表明AZA用于维持缓解CD患者治疗利大于弊,整体调整质量寿命期望值增加,这种增长在年轻患者中尤为明显^[51]。

5 结论

AZA一般需10-12 wk才能发挥其治疗效应,故一般不用于急性UC和CD治疗,但能够有效地维持缓解、预防IBD复发及降低外科手术率。AZA可诱发皮肤癌、直肠癌、白血病等致死性恶性肿瘤发生,但与未服用者相比,其整体风险并未增加。AZA虽可使淋巴瘤发生率增加4倍,但停药后淋巴瘤可能消退,且AZA诱导淋巴瘤增加的绝对风险较低,使用马尔可夫模型的一项决策分析表明AZA治疗利大于弊的,因此AZA使淋巴瘤风险增加4倍不能阻止AZA用于IBD患者治疗。然而, AZA诱导淋巴瘤发生具体机制,如何预防及监测淋巴瘤发生, AZA停药后淋巴瘤的消退及转归,合并淋巴瘤发生后治疗等问题仍需进一步研究。

6 参考文献

- 1 Poppe D, Tiede I, Fritz G, Becker C, Bartsch B, Wirtz

- S, Strand D, Tanaka S, Galle PR, Bustelo XR, Neurath MF. Azathioprine suppresses ezrin-radixin-moesin-dependent T cell-APC conjugation through inhibition of Vav guanosine exchange activity on Rac proteins. *J Immunol* 2006; 176: 640-651 [PMID: 16365460]
- 2 Tiede I, Fritz G, Strand S, Poppe D, Dvorsky R, Strand D, Lehr HA, Wirtz S, Becker C, Atreya R, Mudter J, Hildner K, Bartsch B, Holtmann M, Blumberg R, Walczak H, Iven H, Galle PR, Ahmadian MR, Neurath MF. CD28-dependent Rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human CD4+ T lymphocytes. *J Clin Invest* 2003; 111: 1133-1145 [PMID: 12697733 DOI: 10.1172/JCI16432]
- 3 Kurzawski M, Dziewanowski K, Safranow K, Drozdziak M. Polymorphism of genes involved in purine metabolism (XDH, AOX1, MOCOS) in kidney transplant recipients receiving azathioprine. *Ther Drug Monit* 2012; 34: 266-274 [PMID: 22495427 DOI: 10.1097/FTD.0b013e31824aa681]
- 4 da Mota LM, Cruz BA, Brenol CV, Pereira IA, Rezende-Fronza LS, Bertolo MB, de Freitas MV, da Silva NA, Louzada-Júnior P, Giorgi RD, Lima RA, da Rocha Castelar Pinheiro G. 2012 Brazilian Society of Rheumatology Consensus for the treatment of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol* 2012; 52: 152-174 [PMID: 22460407]
- 5 Czaja AJ. Advances in the current treatment of autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1996-2010 [PMID: 22476586 DOI: 10.1007/s10620-012-2151-2]
- 6 Bourrier A, Seksik P, Cosnes J. Is There Still A Room For Azathioprine Monotherapy In Inflammatory Bowel Disease? *Curr Drug Targets* 2013 Apr 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23574282]
- 7 Meuwissen SG, Ewe K, Gassull MA, Geboes K, Jewell D, Pallone F, Rachmilewitz D, Rask-Madsen J, Riddell BH, Sandborn BJ, Schmuck ML. IOIBD questionnaire on the clinical use of azathioprine, 6-mercaptopurine, cyclosporin A and methotrexate in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 13-18 [PMID: 10656204 DOI: 10.1097/00042737-200012010-00004]
- 8 Candy S, Wright J, Gerber M, Adams G, Gerig M, Goodman R. A controlled double blind study of azathioprine in the management of Crohn's disease. *Gut* 1995; 37: 674-678 [PMID: 8549944 DOI: 10.1136/gut.37.5.674]
- 9 Ewe K, Press AG, Singe CC, Stufler M, Ueberschaer B, Hommel G, Meyer zum Büschenfelde KH. Azathioprine combined with prednisolone or monotherapy with prednisolone in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1993; 105: 367-372 [PMID: 8335191]
- 10 Oren R, Moshkowitz M, Odes S, Becker S, Keter D, Pomeranz I, Shirin C, Reisfeld I, Broide E, Lavy A, Fich A, Eliakim R, Patz J, Villa Y, Arber N, Gilat T. Methotrexate in chronic active Crohn's disease: a double-blind, randomized, Israeli multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 2203-2209 [PMID: 9399753]
- 11 Reinisch W, Panés J, Lémann M, Schreiber S, Feagan B, Schmidt S, Sturniolo GC, Mikhailova T, Alexeeva O, Sanna L, Haas T, Korom S, Mayer H. A multicenter, randomized, double-blind trial of everolimus versus azathioprine and placebo to maintain steroid-induced remission in patients with moderate-to-severe active Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2284-2292 [PMID: 18671816 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02024.x]
- 12 Tremaine WJ, Schroeder KW, Harrison JM, Zinsmeister AR. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the oral mesalamine (5-ASA) preparation, Asacol, in the treatment of symptomatic Crohn's colitis and ileocolitis. *J Clin Gastroenterol* 1994; 19: 278-282 [PMID: 7876505 DOI: 10.1097/0004836-199412000-00003]
- 13 Jewell DP, Truelove SC. Azathioprine in ulcerative colitis: final report on controlled therapeutic trial. *Br Med J* 1974; 4: 627-630 [PMID: 4441827 DOI: 10.1136/bmj.4.5945.627]
- 14 Sood A, Midha V, Sood N, Kaushal V. Role of azathioprine in severe ulcerative colitis: one-year, placebo-controlled, randomized trial. *Indian J Gastroenterol* 2000; 19: 14-16 [PMID: 10659481]
- 15 Prefontaine E, Macdonald JK, Sutherland LR. Azathioprine or 6-mercaptopurine for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (6): CD000545 [PMID: 20556747 DOI: 10.1002/14651858.CD000545.pub3]
- 16 Chande N, Tsoulis DJ, MacDonald JK. Azathioprine or 6-mercaptopurine for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 4: CD000545 [PMID: 23633304 DOI: 10.1002/14651858.CD000545.pub4]
- 17 Gisbert JP, Linares PM, McNicholl AG, Maté J, Gómollón F. Meta-analysis: the efficacy of azathioprine and mercaptopurine in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 126-137 [PMID: 19392869 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04023.x]
- 18 Prefontaine E, Sutherland LR, Macdonald JK, Cepoiu M. Azathioprine or 6-mercaptopurine for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (1): CD000067 [PMID: 19160175 DOI: 10.1002/14651858.CD000067.pub2]
- 19 Lémann M, Mary JY, Colombel JF, Duclos B, Soule JC, Lerebours E, Modigliani R, Bouhnik Y. A randomized, double-blind, controlled withdrawal trial in Crohn's disease patients in long-term remission on azathioprine. *Gastroenterology* 2005; 128: 1812-1818 [PMID: 15940616 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.031]
- 20 Peyrin-Biroulet L, Lémann M. Review article: remission rates achievable by current therapies for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 870-879 [PMID: 21323689 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04599.x]
- 21 Clarke K, Regueiro M. Stopping immunomodulators and biologics in inflammatory bowel disease patients in remission. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 174-179 [PMID: 21674731 DOI: 10.1002/ibd.21792]
- 22 Frei P, Biedermann L, Nielsen OH, Rogler G. Use of thiopurines in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1040-1048 [PMID: 23467510 DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1040]
- 23 Bradford K, Shih DQ. Optimizing 6-mercaptopurine and azathioprine therapy in the management of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4166-4173 [PMID: 22072847 DOI: 10.3748/wjg.v17.i37.4166]
- 24 Gilissen LP, Wong DR, Engels LG, Bierau J, Bakker JA, Paulussen AD, Romberg-Camps MJ, Stronkhorst A, Bus P, Bos LP, Hooymans PM, Stockbrügger RW, Neef C, Masclee AA. Therapeutic drug monitoring of thiopurine metabolites in adult thiopurine tolerant IBD patients on maintenance therapy. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 698-707 [PMID: 22398098 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.12.003]

■应用要点

AZA可广泛应用于治疗IBD患者,其价格合理,可有效地维持缓解IBD患者,降低IBD复发及外科手术率。

■同行评价

本文选题新颖,在国内综述中类似文章少见,引用文献充分,有大量的证据支持AZA用于IBD患者治疗利大于弊,相信对临床上该种药物的应用有较好的指导作用。

- 25 Dubinsky MC. Azathioprine, 6-mercaptopurine in inflammatory bowel disease: pharmacology, efficacy, and safety. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 731-743 [PMID: 15354273 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00344-1]
- 26 Su C, Lichtenstein GR. Treatment of inflammatory bowel disease with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gastroenterol Clin North Am* 2004; 33: 209-234, viii [PMID: 15177535 DOI: 10.1016/j.gtc.2004.02.004]
- 27 Lennard L, Singleton HJ. High-performance liquid chromatographic assay of human red blood cell thiopurine methyltransferase activity. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1994; 661: 25-33 [PMID: 7866549 DOI: 10.1016/0378-4347(94)00327-0]
- 28 Derijks LJ, Gilissen LP, Hooymans PM, Hommes DW. Review article: thiopurines in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 715-729 [PMID: 16918876 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02980.x]
- 29 Deshpande AR, Abreu MT. Optimizing therapy with 6-mercaptopurine and azathioprine: to measure or not to measure? *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 275-279 [PMID: 21180608 DOI: 10.1177/1756283X10376121]
- 30 Thomas CW, Myhre GM, Tschumper R, Sreekumar R, Jelinek D, McKean DJ, Lipsky JJ, Sandborn WJ, Egan LJ. Selective inhibition of inflammatory gene expression in activated T lymphocytes: a mechanism of immune suppression by thiopurines. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 537-545 [PMID: 15388785 DOI: 10.1124/jpet.104.074815]
- 31 Smith MA, Irving PM, Marinaki AM, Sanderson JD. Review article: malignancy on thiopurine treatment with special reference to inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 119-130 [PMID: 20412066 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04330.x]
- 32 Beaugerie L. Immunosuppression-related lymphomas and cancers in IBD: how can they be prevented? *Dig Dis* 2012; 30: 415-419 [PMID: 22796808 DOI: 10.1159/000338144]
- 33 Kotlyar DS, Osterman MT, Diamond RH, Porter D, Blonski WC, Wasik M, Sampat S, Mendizabal M, Lin MV, Lichtenstein GR. A systematic review of factors that contribute to hepatosplenic T-cell lymphoma in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 36-41.e1 [PMID: 20888436 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.09.016]
- 34 Lewis JD, Bilker WB, Brensinger C, Deren JJ, Vaughn DJ, Strom BL. Inflammatory bowel disease is not associated with an increased risk of lymphoma. *Gastroenterology* 2001; 121: 1080-1087 [PMID: 11677199 DOI: 10.1053/gast.2001.28703]
- 35 Askling J, Brandt L, Lapidus A, Karlén P, Björkholm M, Löfberg R, Ekbom A. Risk of haematopoietic cancer in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2005; 54: 617-622 [PMID: 15831904 DOI: 10.1136/gut.2004.051771]
- 36 Vos AC, Bakkal N, Minnee RC, Casparie MK, de Jong DJ, Dijkstra G, Stokkers P, van Bodegraven AA, Pierik M, van der Woude CJ, Oldenburg B, Hommes DW. Risk of malignant lymphoma in patients with inflammatory bowel diseases: a Dutch nationwide study. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1837-1845 [PMID: 21830262 DOI: 10.1002/ibd.21582]
- 37 Bernstein CN, Blanchard JF, Kliever E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer* 2001; 91: 854-862 [PMID: 11241255]
- 38 Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut* 2002; 50: 485-489 [PMID: 11889067 DOI: 10.1136/gut.50.4.485]
- 39 Beaugerie L, Brousse N, Bouvier AM, Colombel JF, Lémann M, Cosnes J, Hébuterne X, Cortot A, Bouhnik Y, Gendre JP, Simon T, Maynadié M, Hermine O, Faivre J, Carrat F. Lymphoproliferative disorders in patients receiving thiopurines for inflammatory bowel disease: a prospective observational cohort study. *Lancet* 2009; 374: 1617-1625 [PMID: 19837455 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61302-7]
- 40 Kandiel A, Fraser AG, Korelitz BI, Brensinger C, Lewis JD. Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut* 2005; 54: 1121-1125 [PMID: 16009685 DOI: 10.1136/gut.2004.049460]
- 41 Swerdlow SH. T-cell and NK-cell posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol* 2007; 127: 887-895 [PMID: 17509986 DOI: 10.1309/LYNX3RGF7D7KPYG0]
- 42 Larvol L, Soule JC, Le Tourneau A. Reversible lymphoma in the setting of azathioprine therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 883-884 [PMID: 8078549 DOI: 10.1056/NEJM199409293311321]
- 43 Evans SJ, Watson DK, O'Sullivan M. Reversible Hodgkin's lymphoma associated with Epstein-Barr virus occurring during azathioprine therapy for SLE. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 1103-1104 [PMID: 18469023 DOI: 10.1093/rheumatology/ken188]
- 44 Armstrong RG, West J, Card TR. Risk of cancer in inflammatory bowel disease treated with azathioprine: a UK population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1604-1609 [PMID: 20104215 DOI: 10.1038/ajg.2009.745]
- 45 Jaspers GJ, Verkade HJ, Escher JC, de Ridder L, Taminiau JA, Rings EH. Azathioprine maintains first remission in newly diagnosed pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 831-836 [PMID: 16954801]
- 46 Lakatos PL, Czegledi Z, Szamosi T, Banai J, David G, Zsigmond F, Pandur T, Erdelyi Z, Gemela O, Papp J, Lakatos L. Perianal disease, small bowel disease, smoking, prior steroid or early azathioprine/biological therapy are predictors of disease behavior change in patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3504-3510 [PMID: 19630105 DOI: 10.3748/wjg.15.3504]
- 47 Szamosi T, Banai J, Lakatos L, Czegledi Z, David G, Zsigmond F, Pandur T, Erdelyi Z, Gemela O, Papp M, Papp J, Lakatos PL. Early azathioprine/biological therapy is associated with decreased risk for first surgery and delays time to surgery but not reoperation in both smokers and nonsmokers with Crohn's disease, while smoking decreases the risk of colectomy in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 872-879 [PMID: 19648821 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833036d9]
- 48 Picco MF, Zubiaurre I, Adluni M, Cangemi JR, Shelton D. Immunomodulators are associated with a lower risk of first surgery among patients with non-penetrating non-stricturing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2754-2759 [PMID: 19584832 DOI: 10.1038/ajg.2009.387]

- 49 Treton X, Bouhnik Y, Mary JY, Colombel JF, Duclos B, Soule JC, Lerebours E, Cosnes J, Lemann M. Azathioprine withdrawal in patients with Crohn's disease maintained on prolonged remission: a high risk of relapse. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 80-85 [PMID: 18849016 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.08.028]
- 50 Cassinotti A, Actis GC, Duca P, Massari A, Colombo E, Gai E, Annese V, D'Albasio G, Manes G, Travis S, Porro GB, Ardizzone S. Maintenance treatment with azathioprine in ulcerative colitis: outcome and predictive factors after drug withdrawal. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2760-2767 [PMID: 19623172 DOI: 10.1038/ajg.2009.410]
- 51 Lewis JD, Schwartz JS, Lichtenstein GR. Azathioprine for maintenance of remission in Crohn's disease: benefits outweigh the risk of lymphoma. *Gastroenterology* 2000; 118: 1018-1024 [PMID: 10833475 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70353-2]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

PLK1基因RNAi慢病毒载体的构建及对食管鳞癌细胞侵袭转移的影响

于文静, 张宝刚, 陈丽梅, 王守训, 冯卫国, 杜长青, 刘顺梅, 赵春玲

■背景资料

PLK1(Polo-like kinase 1)是哺乳动物细胞内一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,在细胞有丝分裂的不同时期均起到十分重要的作用,对中心体成熟、胞质分裂等均有重要影响。但目前关于PLK1影响肿瘤的发生发展,尤其迁移和侵袭的研究报道较少。

于文静, 陈丽梅, 冯卫国, 杜长青, 刘顺梅, 赵春玲, 潍坊医学院细胞生物学教研室 山东省潍坊市 261053

张宝刚, 潍坊医学院病理学教研室 山东省潍坊市 261053

王守训, 潍坊医学院生物化学教研室 山东省潍坊市 261053

于文静, 讲师, 主要从事肿瘤分子生物学研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 30901779, 81072608

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2010HM065

山东省高等学校科技计划基金资助项目, No. J10LC20

作者贡献分布: 此课题由赵春玲与刘顺梅设计; 研究过程由于文静、陈丽梅及杜长青操作完成; 研究所用部分试剂与分析工具由张宝刚与王守训提供; 数据分析由于文静与冯卫国完成; 本文写作由于文静与赵春玲完成。

通讯作者: 赵春玲, 副教授, 硕士生导师, 261053, 山东省潍坊市宝通西街7166号, 潍坊医学院细胞生物学教研室。

zhaochunlingbj@163.com

电话: 0536-8462053

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-06-13

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Lentiviral-mediated RNA interference targeting the PLK1 gene inhibits invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma cells

Wen-Jing Yu, Bao-Gang Zhang, Li-Mei Chen, Shou-Xun Wang, Wei-Guo Feng, Chang-Qing Du, Shun-Mei Liu, Chun-Ling Zhao

Wen-Jing Yu, Li-Mei Chen, Wei-Guo Feng, Chang-Qing Du, Shun-Mei Liu, Chun-Ling Zhao, Department of Cell Biology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Bao-Gang Zhang, Department of Biochemistry, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Shou-Xun Wang, Department of Pathology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30901779 and 81072608; the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2010HM065; the Higher Educational Science and Technology Program of Shandong Province, China, No. J10LC20

Correspondence to: Chun-Ling Zhao, Associate Professor, Department of Cell Biology, Weifang Medical University, 7166 Baotong West Road, Weifang 261053, Shandong Province, China. zhaochunlingbj@163.com

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-06-13

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

Aim: To investigate the inhibitory effect of lentiviral-mediated RNA interference targeting the PLK1 gene on invasion and metastasis of esoph-

ageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells.

METHODS: RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of PLK1 mRNA and protein in different ESCC cells. Based on the mRNA sequence of human PLK1 gene, interference fragments were designed, and interference efficiency was detected by Western blot. The *in vitro* effect of PLK1 siRNA on migration and invasion of ESCC cells was assessed by wound-healing assay and Matrigel chemoinvasion assay. The most efficient interference fragment was cloned into the lentiviral vector pGLV/H1/GFP+Puro and sequenced. The resulting recombinant lentiviral vector and packaging plasmids were transfected into 293T cells, and packaged virus particles were used to infect ESCC cells. Interference efficiency was assessed using fluorescence quantitative PCR and Western blot. The *in vivo* effect of recombinant lentiviral vector on invasion and metastasis of ESCC cells was studied using a nude mouse model of pulmonary metastasis.

RESULTS: The ESCC cell line TE-8 overexpressed PLK1, and the most efficient PLK1 siRNA could obviously inhibit migration and invasion of TE-8 cells *in vitro*. The lentiviral vector for RNA interference targeting the PLK1 gene was successfully constructed. The prepared recombinant virus particles could infect TE-8 cells and significantly inhibit the metastasis of ESCC cells *in vivo*.

CONCLUSION: Lentiviral-mediated RNA interference targeting PLK1 could obviously inhibit invasion and metastasis of ESCC cells. PLK1 may promote the malignant development of ESCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Polo-like kinase 1; Invasion; Metastasis; Lentiviral vector; RNA interference; Esophageal squamous cell carcinoma

Yu WJ, Zhang BG, Chen LM, Wang SX, Feng WG, Du CQ,

■同行评议者
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

Liu SM, Zhao CL. Lentiviral-mediated RNA interference targeting the *PLK1* gene inhibits invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2128-2135 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2128.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2128>

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2128.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2128>

摘要

目的: 研究慢病毒介导的*PLK1* (Polo-like kinase 1) 基因RNAi对食管鳞癌细胞侵袭转移的影响。

方法: 利用RT-PCR和Western blot检测不同食管鳞癌细胞中*PLK1*的表达。根据人*PLK1* mRNA序列设计干扰片段, Western blot检测干扰效率; 利用划痕愈合实验及Transwell实验研究靶向*PLK1*的RNAi对食管鳞癌细胞体外侵袭转移能力的影响。将有效干扰序列构建至慢病毒干扰载体pGLV/H1/GFP+Puro中, 测序鉴定。重组慢病毒载体与包装质粒共转染293T细胞包装病毒, 制备的重组病毒感染食管鳞癌细胞, 利用荧光定量PCR和Western blot检测干扰效率; 利用裸鼠肺转移模型实验研究慢病毒介导的*PLK1*基因RNAi对食管鳞癌细胞在体内侵袭转移能力的影响。

结果: 筛选出一种高表达*PLK1*的食管鳞癌细胞株TE-8用于实验研究; 筛选出有效的干扰片段, 并成功构建靶向干扰*PLK1*基因的慢病毒载体, 制备重组病毒颗粒用于感染食管鳞癌细胞; 靶向*PLK1*的RNAi在体内外均能明显抑制食管鳞癌细胞的侵袭与转移。

结论: 靶向干扰*PLK1*基因的重组慢病毒能够抑制食管鳞癌细胞的侵袭与转移, *PLK1*基因影响着食管鳞癌的恶性进展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: *PLK1*; 侵袭; 转移; 慢病毒载体; RNAi; 食管鳞癌

核心提示: *PLK1* (Polo-like kinase 1) 在鳞状食管癌组织中呈高表达, 且表达程度与食管鳞癌的分化程度及淋巴结转移密切相关, 筛选有效的干扰片段, 成功构建靶向干扰*PLK1*基因的慢病毒载体, 靶向*PLK1*的RNAi在体内外均能明显抑制食管鳞癌细胞的侵袭与转移, *PLK1*基因影响着食管鳞癌的恶性进展。

0 引言

PLK1 (Polo-like kinase 1) 是哺乳动物细胞内一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 在细胞有丝分裂的不同时期均起到十分重要的作用, 对中心体成熟、细胞周期的正常进行、胞质分裂等均有重要影响^[1-4]。研究发现, 在大多数人类肿瘤中*PLK1*均表现为高表达, 且*PLK1*的过高表达在非小细胞性肺癌、黑色素瘤患者均提示预后不良^[5-8]。但目前关于*PLK1*如何影响肿瘤的发生发展的报道较少, *PLK1*能否成为肿瘤治疗的靶点也成为新的研究热点。

目前对于*PLK1*与食管癌关系的研究正处于起步阶段, 我们的前期工作表明*PLK1*在鳞状食管癌组织中呈高表达, 且*PLK1*的表达程度与食管鳞癌的分化程度及淋巴结转移密切相关^[9]。但*PLK1*是否在食管鳞癌的侵袭转移中发挥作用及其作用机制尚未见相关报道。本研究通过构建针对人*PLK1*基因RNAi的重组慢病毒载体LV-*PLK1*, 制备靶向*PLK1*基因的RNAi慢病毒, 用慢病毒感染食管鳞癌细胞, 研究靶向*PLK1*基因的RNAi慢病毒对食管鳞癌细胞侵袭转移能力的影响, 为靶向*PLK1*基因抗食管鳞癌转移的基因治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 食管鳞癌细胞株TE-8、TE-10、TE-15和Eca-109购自中国科学院上海细胞库; 293T细胞本实验室保存; 两个*PLK1* siRNA的寡核苷酸序列siRNA-*PLK1*-1和siRNA-*PLK1*-2、非特异性siRNA (siRNA-NC)、DNA-shRNA-*PLK1*和DNA-shRNA-NC由Takara公司合成(表1); pGLV/H1/GFP+Puro载体和包装质粒Helper Vector均购自上海吉玛制药技术有限公司; RPMI 1640培养基和DMEM培养液购自Gibco公司; RNAiso Plus、PrimeScript® RT reagent Kit、SYBR® PrimeScript® RT-PCR Kit、*Bam*H I 和*Eco*R I 限制性内切酶及T4 DNA连接酶均购自Takara公司; RIPA细胞裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒均购自Beyotime公司; 兔抗人*PLK1*单抗、兔抗人actin单抗和HRP标记的羊抗兔二抗购自Santa Cruz公司; Matrigel购自Sigma公司; Lipofectamine™ 2000 Transfection Reagent和

■ 研究前沿

以慢病毒为载体, 以慢病毒为载体的*PLK1*基因RNAi, 为开发抗食管鳞癌转移的新型生物基因药物提供新思路, 具有重要的临床意义。

于文静, 张宝刚, 陈丽梅, 王守训, 冯卫国, 杜长青, 刘顺梅, 赵春玲. *PLK1* 基因RNAi慢病毒载体的构建及对食管鳞癌细胞侵袭转移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2128-2135

■ 相关报道

PLK1在多数人类肿瘤中均表现为高表达,且PLK1的过表达在非小细胞性肺癌、黑色素瘤患者中均提示预后不良;siRNA干扰PLK1的表达可对肿瘤细胞凋亡产生影响。

表 1 本研究中的siRNA及DNA-shRNA序列

名称	序列(5'-3')
siRNA-PLK1-1	正义链: GCGUGACGGCACUGAGUCCUATT 反义链: UAGGACUCAGUGCCGUCACGCTT
siRNA-PLK1-2	正义链: GGGCGGCUUUGCCAAGUGCUTT 反义链: AGCACUUGGCAAAGCCGCCCTT
siRNA-NC	正义链: UUCUCCGAACGUGUCACGU 反义链: ACGUGACACGUUCGGAGAA
DNA-shRNA-PLK1	正义链: GATCCGGGCGGCTTTGCCAAGTGCTTCAAGAGAAGCACTTGGCAAAGCCGCCCTTTTT 反义链: AATTCAAAAAAGGGCGGCTTTGCCAAGTGCTTCTCTTGAAAGCACTTGGCAAAGCCGCC
DNA-shRNA-NC	正义链: GATCCTTCTCCGAACGTGTACGTTTCAAGAGAACGTGACACGTTCTGGAGAA TTTTTT 反义链: AATTCAAAAAATTCTCCGAACGTGTACGTTCTCTTGAAACGTGACACGTTCTGGAGAA

Lipofectamine RNAiMax Transfection Reagent购自Invitrogen公司; Transwell小室(24孔, 0.8 μ m)购自Corning公司; 本研究所用引物由赛百胜公司合成. PLK1上游引物: 5'-TGACGAGTTCTT-TACTTCTGGC-3', 下游引物: 5'-CAGGCTGT-CACCATCATTTGTAG-3', 退火温度是60 $^{\circ}$ C, 扩增片断长度是451 bp; actin上游引物: 5'-TGAC-GTGGACATCCGCAAAG-3', 下游引物: 5'-CT-GGAAGGTGGACAGCGAGG-3', 退火温度是55 $^{\circ}$ C, 扩增片断长度是206 bp.

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR检测食管鳞癌细胞株中PLK mRNA水平的表达: 利用RNAiso Plus和PrimeScript[®] RT reagent Kit从体外培养的食管鳞癌细胞株中提取总RNA并反转录为cDNA. 利用Taq[™]进行PCR扩增, 具体步骤参考试剂盒说明书. 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 2 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 15 s, 30个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min.

1.2.2 Western blot检测食管鳞癌细胞株中PLK1基因在蛋白质水平的表达: 取对数生长期的食管鳞癌细胞株, 利用RIPA细胞裂解液试剂盒进行蛋白质样品制备, 并参照BCA蛋白浓度测定试剂盒说明书对蛋白质进行定量, 每孔上样30 μ g蛋白样品进行SDS-PAGE电泳, 电泳后利用半干法转膜将凝胶中的蛋白质转移到PVDF膜上, 封闭后分别加入一抗(兔抗人PLK1单抗1:1000稀释; 兔抗人actin单抗1:2000稀释)和HRP标记的羊抗兔二抗(1:2000稀释), 洗涤后, 与ECL试剂反应处理曝光, 对蛋白质条带进行分析.

1.2.3 人PLK1基因siRNA靶序列的设计及重

组慢病毒载体的构建: 基于人PLK1 mRNA序列(NM-005030.0), 利用在线设计软件http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html设计两段用于干扰人PLK1的干扰序列siRNA-PLK1-1和siRNA-PLK1-2及对照序列siRNA-NC, 委托Takara公司合成. 根据Lipofectamine RNAiMax Transfection Reagent说明书转染合成的siRNA至食管鳞癌细胞, Western blot检测干扰效率. 根据慢病毒载体特点设计有效干扰片段的DNA片段DNA-shRNA-PLK1及对照序列DNA-shRNA-NC, 并根据载体特点上下游分别引入BamH I和EcoR I酶切位点, 序列见表1, 委托Takara公司合成正反链并退火形成双链. 用BamH I和EcoR I双酶切慢病毒干扰载体pGLV/H1/GFP+Puro, 使其线性化, 割胶纯化回收, 用T4 DNA连接酶将上述合成的片段与线性化的载体于16 $^{\circ}$ C连接过夜. 经转化获得单克隆, 送Takara公司测序分析, 测序正确的重组载体命名为LV-PLK1.

1.2.4 重组慢病毒颗粒的包装、滴度检测及感染食管鳞癌细胞: (1)病毒的包装: 上述重组慢病毒质粒LV-PLK1(LV-NC为对照)与包装质粒 Helper Vector, 按照Invitrogen Lipofectamine[™] 2000 Transfection Reagent使用说明书共转染293T细胞, 转染8 h后换为完全培养基; (2)病毒的收集与浓缩: 转染后48 h收集293T细胞上清液. 4 $^{\circ}$ C, 4000 g离心10 min, 收集上清, 用0.45 μ m滤器过滤后分装于小管中, -80 $^{\circ}$ C长期保存; (3)慢病毒滴度检测: 准备5个无菌Ep管, 每管中加入90 μ L的无血清培养基; 取待测定的病毒原液10 μ L加

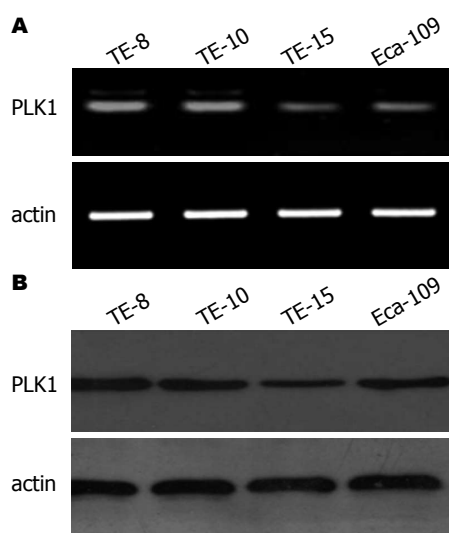


图1 筛选高表达PLK1的食管鳞癌细胞. A: RT-PCR检测; B: Western blot检测.

入到第一个管中, 混匀后, 从第1管取10 μ L加入第2管中, 继续相同的操作直到第5管; 除去培养的293T细胞的DMEM培养液, 加入稀释好的90 μ L病毒溶液, 继续培养24 h后换成100 μ L的完全培养基, 48 h后观察荧光表达情况; (4)感染食管鳞癌细胞: 在细胞培养瓶(75 cm^2)中, 接种 1×10^6 个食管鳞癌细胞, 加入病毒上清稀释液(10 MOI)混合均匀后放入 CO_2 培养箱(37 $^\circ\text{C}$, 50 mL/L CO_2)24 h后移去病毒上清稀释液, 加入RPMI 1640培养基(10%FBS), 继续培养24 h后用于下游实验.

1.2.5 划痕愈合实验检测食管鳞癌细胞体外迁移能力: 将食管鳞癌细胞接种于6孔板, 当细胞密度达到90%时, 瞬时转染化学合成的siRNA-PLK1和对照siRNA-NC 48 h, 用200 μ L的枪头尖以均匀的力度在六孔板上划线. 用无抗生素、无胎牛血清的培养基洗细胞3次, 换用含2%FBS的培养基培养24 h, 拍照.

1.2.6 Transwell实验检测食管鳞癌细胞体外侵袭能力: 瞬时转染化学合成的siRNA-PLK1和对照siRNA-NC至食管鳞癌细胞48 h, 胰酶消化细胞, 以 5×10^4 个细胞/孔的密度接种于Transwell(Matrigel包被)中, 静置1 h; 在下层中加入无抗生素、无胎牛血清的培养基; 培养16 h后取出WELL, 4%多聚甲醛固定10 min, PBS洗两次, 结晶紫染色30 min; 用棉签小心擦拭WELL内部, 擦掉内表面的细胞, PBS洗3次, 显微镜下观察照相; 随机取10个视野计数, 统计数值, 绘制柱形图.

1.2.7 裸鼠肺转移模型实验检测食管鳞癌细胞的

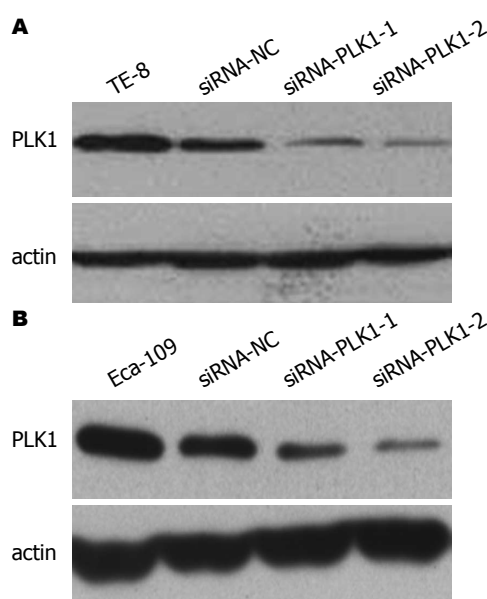


图2 靶向PLK1的siRNA序列的干扰效率比较. A: TE-8细胞株; B: Eca-109细胞株.

肺转移能力: 选取5-8 wk的裸鼠分成4组. 消化对数生长期的食管鳞癌细胞, 用无血清无抗生素培养基洗细胞2次, 将细胞配成 4×10^5 个/100 μ L的浓度. 通过尾静脉注射的方式接种于裸鼠, 接种量约为 4×10^5 个细胞/只. 在接种后2 h, 开始通过尾静脉注射慢病毒的方式治疗. 每次每只裸鼠注射 2×10^6 TU的慢病毒, 每3 d治疗1次, 共计治疗6次. 待空白组裸鼠出现明显呼吸急促, 行动迟缓的现象后, 统一处死裸鼠取肺脏, 计数肺部肿瘤转移结节的数目并拍照.

统计学处理 实验数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计学处理, 两组间均数比较用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同食管鳞癌细胞株中PLK1的表达量的检测 通过RT-PCR(图1A)和Western blot(图1B)的方法分别检测在mRNA和蛋白质水平PLK1在不同的食管鳞癌细胞株中的表达量. 在mRNA和蛋白质水平的检测结果一致, 以actin为内参, 结果均显示TE-8为高表达PLK1的细胞株. 故选用TE-8为后续研究的实验细胞.

2.2 筛选有效的PLK1基因siRNA片段 将合成的siRNA正反链退火形成双链后, 转染TE-8(图2A)和Eca-109(图2B). 以Western blot方法检测干扰效果, 发现在两种细胞株中的干扰效果一致, 与对照组(未转染的空白细胞和siRNA-NC组)相比, siRNA-PLK1-2转染的两株细胞中PLK1的蛋白表达水平均明显降低, 故选择该序列设计并构

■ 创新盘点

本研究通过构建针对人PLK1基因RNAi的重组慢病毒载体LV-PLK1, 制备靶向PLK1基因的RNAi慢病毒, 用慢病毒感染食管鳞癌细胞, 体内外实验结合研究靶向PLK1基因的RNAi慢病毒对食管鳞癌细胞侵袭转移能力的影响.

■应用要点

为靶向 $PLK1$ 基因
抗食管鳞癌转移
的基因治疗提供
实验依据。

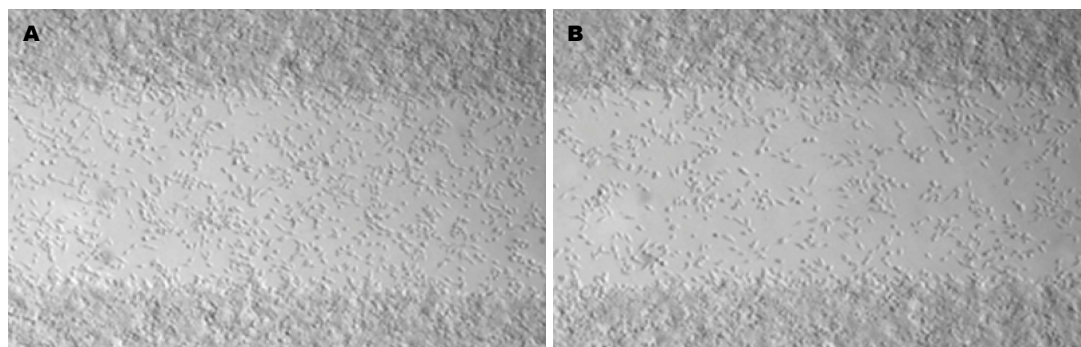


图3 划痕愈合实验结果. A: siRNA-NC; B: siRNA-PLK1.

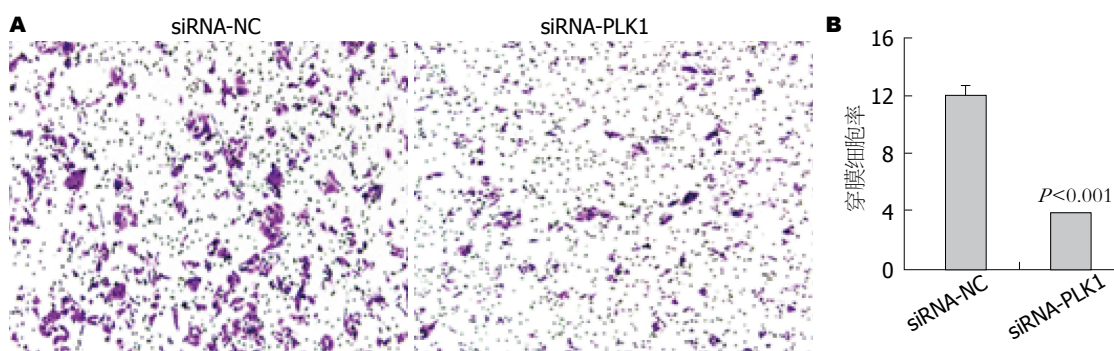


图4 Transwell实验结果. A: siRNA-PLK1组和siRNA-NC组; B: 穿膜细胞率对比. $P < 0.001$.

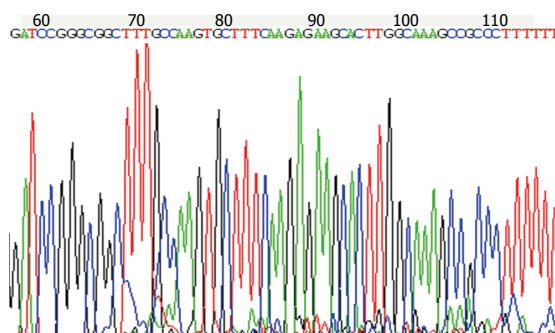


图5 重组慢病毒载体LV-PLK1插入片段测序结果.

建至慢病毒载体中的DNA-shRNA-PLK1, 并进行体外的细胞生物学实验.

2.3 靶向人 $PLK1$ 的RNAi对食管鳞癌细胞体外迁移能力有明显抑制作用 划痕愈合实验结果显示, 实验组(转染siRNA-PLK1)与对照组(siRNA-NC)相比, 划痕处细胞迁移的数目明显减少(图3), 表明靶向 $PLK1$ 的RNAi对食管鳞癌细胞的迁移能力有明显抑制作用.

2.4 靶向人 $PLK1$ 的RNAi对食管鳞癌细胞体外侵袭能力有明显抑制作用 Transwell实验结果显示, 实验组(siRNA-PLK1)穿膜细胞数明显比siRNA-NC组少(图4A), 差异明显($P < 0.001$)(图4B), 表明 $PLK1$ 基因表达沉默能明显抑制食管鳞癌细胞在

体外的侵袭能力.

2.5 重组慢病毒载体的测序鉴定 对插入慢病毒载体中的序列进行测序, 测序结果与理论预测序列完全一致(图5), 该序列能够转录靶向人 $PLK1$ 基因的shRNA. 构建成功的慢病毒载体命名为LV-PLK1.

2.6 $PLK1$ 基因干扰效率的检测 TE-8分别被LV-NC和LV-PLK1重组病毒感染, 72 h后利用荧光定量PCR检测 $PLK1$ 在转录水平上的表达. 结果显示, 与阴性对照相比, LV-PLK1在转录水平上产生明显的干扰效应; 与LV-NC相比, 其干扰效率约为73%(图6A). Western blot检测结果显示在蛋白质水平上 $PLK1$ 的表达同样低于阴性对照组(图6B).

2.7 慢病毒介导的 $PLK1$ 基因RNAi能明显抑制食管鳞癌细胞体内肺转移能力 裸鼠肺转移实验发现, LV-PLK1治疗组肺部肿瘤结节数明显少于LV-NC组(图7A), 差异有统计学意义($P < 0.01$)(图7B). 表明靶向 $PLK1$ 的RNAi能明显抑制食管鳞癌细胞的肺转移.

3 讨论

侵袭与转移是恶性肿瘤的重要特征, 也是肿瘤患者死亡的主要原因. 研究表明^[10-13]肿瘤细胞的

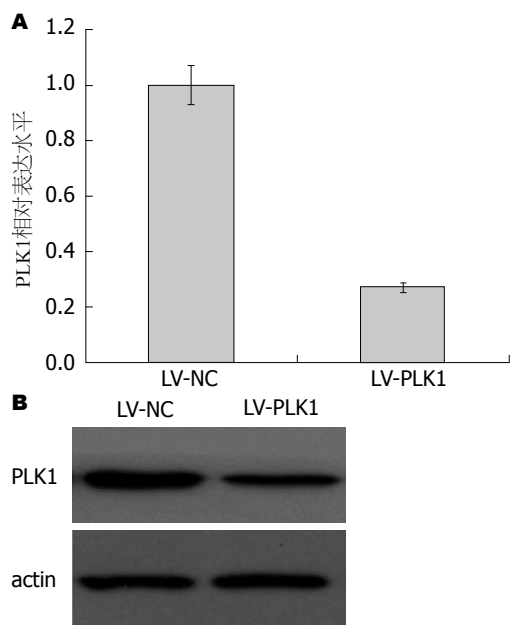


图 6 *PLK1* 基因干扰效率的检测. A: 干扰效率对比; B: Western blot 检测.

迁移和侵袭能力是肿瘤转移的限速环节, 而肿瘤的迁移和侵袭过程是一个多步骤、多阶段、多因素的复杂过程.

作为调控细胞周期的重要的丝氨酸/苏氨酸激酶, *PLK1* 在许多肿瘤中表现为高表达^[14-17]; 少量的研究表明 *PLK1* 的高表达参与了肿瘤的侵袭转移^[18-20] 或凋亡^[21]. Wang 等^[22] 研究表明在转移的肝细胞癌中异常的 *Plk1*-*Cdc25A* 信号通路起了重要作用. Lu 等^[23] 研究发现 *PLK1* 表达在早期胚胎发育和抑制肿瘤生长方面均有作用. 在对侵袭性乳腺癌的研究中发现^[24], *PLK1* 通过磷酸化波形蛋白 82 位的丝氨酸, 进而调节细胞表面的 $\beta 1$ 整合素的蛋白水平, 从而诱导了乳腺癌细胞侵袭穿过富含粘连蛋白的细胞外基质, 但 *PLK1* 是否在食管鳞癌侵袭转移中发挥作用尚未见研究报道.

RNA 干扰技术^[25-29] 的出现为我们提供了新的基因功能研究与基因治疗手段. 本研究首先筛选出高表达 *PLK1* 的食管鳞癌细胞 TE-8 及能明显降低食管鳞癌细胞中 *PLK1* 表达的 siRNA 干扰片段, 细胞划痕及 Transwell 实验证实该靶向 *PLK1* 的 siRNA 能明显抑制食管鳞癌细胞 TE-8 的迁移与侵袭能力. 为进一步在动物整体水平观察靶向 *PLK1* 的 RNA 干扰效果, 我们构建了能够干扰人 *PLK1* 基因表达的慢病毒载体. 慢病毒是一种逆转录病毒载体, 可以感染体内体外分裂细胞与非分裂细胞, 并整合到其基因组中长时间表达外源基因. 目前慢病毒作为 siRNA 载体使

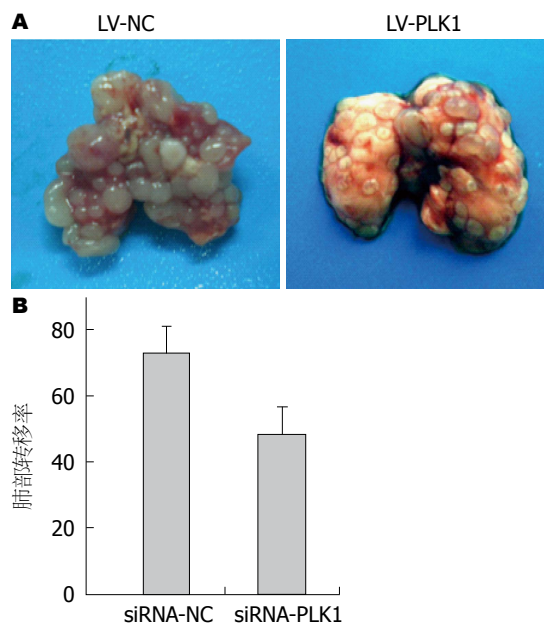


图 7 裸鼠肺转移模型实验结果. A: LV-PLK1 组和 LV-NC 组肺部肿瘤; B: 肺部转移率对比.

同行评价
本文选题新颖, 有良好的临床应用前景, 有一定的创新性.

RNA 干扰技术已广泛的应用于基因治疗领域^[30]. 根据慢病毒质粒 pGLV/H1/GFP+Puro 的特点, 将设计合成的 DNA-shRNA-*PLK1* 插入到载体的 *BamH* I 和 *EcoR* I 之间, 测序正确. 成功构建的慢病毒载体能明显干扰食管鳞癌细胞中 *PLK1* 基因表达, 导致 *PLK1* 在转录和蛋白表达水平均下调. 体内实验裸鼠肺转移模型实验证明慢病毒介导的 *PLK1* 基因 RNAi 能明显抑制食管鳞癌细胞在体内的转移与生长, 这同时也表明 *PLK1* 在食管鳞癌的侵袭转移中发挥重要作用, 其机制还有待深入研究, 这将是我们的下一步的研究重点.

总之, *PLK1* 基因能促进食管鳞癌细胞的侵袭与转移, 在食管鳞癌的恶性进展中发挥重要作用, 以慢病毒为载体的 *PLK1* 基因 RNAi 能明显抑制其功能. 这为开发抗食管鳞癌转移的新型生物基因药物提供新思路, 具有重要的临床意义.

4 参考文献

- Liu X, Erikson RL. Activation of Cdc2/cyclin B and inhibition of centrosome amplification in cells depleted of Plk1 by siRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 8672-8676 [PMID: 12077309]
- Schmit TL, Nihal M, Ndiaye M, Setaluri V, Spiegelman VS, Ahmad N. Numb regulates stability and localization of the mitotic kinase PLK1 and is required for transit through mitosis. *Cancer Res* 2012; 72: 3864-3872 [PMID: 22593191]
- Zhang L, Shao H, Huang Y, Yan F, Chu Y, Hou H, Zhu M, Fu C, Aikhionbare F, Fang G, Ding X, Yao X. PLK1 phosphorylates mitotic centromere-associated kinesin and promotes its depolymerase activity.

- J Biol Chem* 2011; 286: 3033-3046 [PMID: 21078677 DOI: 10.1074/jbc.M110.165340]
- 4 Beck J, Maerki S, Posch M, Metzger T, Persaud A, Scheel H, Hofmann K, Rotin D, Pedrioli P, Swedlow JR, Peter M, Sumara I. Ubiquitylation-dependent localization of PLK1 in mitosis. *Nat Cell Biol* 2013; 15: 430-439 [PMID: 23455478 DOI: 10.1038/ncb2695]
 - 5 Takahashi T, Sano B, Nagata T, Kato H, Sugiyama Y, Kunieda K, Kimura M, Okano Y, Saji S. Polo-like kinase 1 (PLK1) is overexpressed in primary colorectal cancers. *Cancer Sci* 2003; 94: 148-152 [PMID: 12708489]
 - 6 Takai N, Miyazaki T, Fujisawa K, Nasu K, Hamanaka R, Miyakawa I. Expression of polo-like kinase in ovarian cancer is associated with histological grade and clinical stage. *Cancer Lett* 2001; 164: 41-49 [PMID: 11166914]
 - 7 Strebhardt K, Kneisel L, Linhart C, Bernd A, Kaufmann R. Prognostic value of pololike kinase expression in melanomas. *JAMA* 2000; 283: 479-480 [PMID: 10659871]
 - 8 Wolf G, Elez R, Doermer A, Holtrich U, Ackermann H, Stutte HJ, Altmannsberger HM, Rübsamen-Waigmann H, Strebhardt K. Prognostic significance of polo-like kinase (PLK) expression in non-small cell lung cancer. *Oncogene* 1997; 14: 543-549 [PMID: 9053852]
 - 9 Zhao C, Gong L, Li W, Chen L. Overexpression of Plk1 promotes malignant progress in human esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 9-16 [PMID: 19572149 DOI: 10.1007/s00432-009-0630-4]
 - 10 Xu Y, Chen Q, Yu X, Zhou X, Zheng X, Mao W. Factors influencing the risk of recurrence in patients with esophageal carcinoma treated with surgery: A single institution analysis consisting of 1002 cases. *Oncol Lett* 2013; 5: 185-190 [PMID: 23255917]
 - 11 Ni Y, Meng L, Wang L, Dong W, Shen H, Wang G, Liu Q, Du J. MicroRNA-143 functions as a tumor suppressor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 2013; 517: 197-204 [PMID: 23276710 DOI: doi: 10.1016/j.gene]
 - 12 Xia J, Wang F, Wang L, Fan Q. Elevated serine protease HtrA1 inhibits cell proliferation, reduces invasion, and induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by blocking the nuclear factor- κ B signaling pathway. *Tumour Biol* 2013; 34: 317-328 [PMID: 23079781 DOI: 10.1007/s13277-012-0553-6]
 - 13 Li C, Li Z, Zhu M, Zhao T, Chen L, Ji W, Chen H, Su C. Clinicopathological and prognostic significance of survivin over-expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e44764 [PMID: 23028610 DOI: 10.1371/journal.pone.0044764]
 - 14 Zhang XG, Lu XF, Jiao XM, Chen B, Wu JX. PLK1 gene suppresses cell invasion of undifferentiated thyroid carcinoma through the inhibition of CD44v6, MMP-2 and MMP-9. *Exp Ther Med* 2012; 4: 1005-1009 [PMID: 23226764]
 - 15 Zhao XY, Nie CL, Liang SF, Yuan Z, Deng HX, Wei YQ. Enhanced gemcitabine-mediated cell killing of human lung adenocarcinoma by vector-based RNA interference against PLK1. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 597-602 [PMID: 23153503 DOI: 10.1016/j.biopha]
 - 16 Kawata E, Ashihara E, Kimura S, Takenaka K, Sato K, Tanaka R, Yokota A, Kamitsuji Y, Takeuchi M, Kuroda J, Tanaka F, Yoshikawa T, Maekawa T. Administration of PLK-1 small interfering RNA with atelocollagen prevents the growth of liver metastases of lung cancer. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2904-2912 [PMID: 18790771 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0473]
 - 17 Liu X, Erikson RL. Polo-like kinase (Plk)1 depletion induces apoptosis in cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5789-5794 [PMID: 12732729]
 - 18 Han DP, Zhu QL, Cui JT, Wang PX, Qu S, Cao QF, Zong YP, Feng B, Zheng MH, Lu AG. Polo-like kinase 1 is overexpressed in colorectal cancer and participates in the migration and invasion of colorectal cancer cells. *Med Sci Monit* 2012; 18: BR237-BR246 [PMID: 22648245]
 - 19 Fristrup N, Ulhøi BP, Birkenkamp-Demtröder K, Mansilla F, Sanchez-Carbayo M, Segersten U, Malmström PU, Hartmann A, Palou J, Alvarez-Múgica M, Zieger K, Borre M, Ørntoft TF, Dyrskjot L. Cathepsin E, maspin, Plk1, and survivin are promising prognostic protein markers for progression in non-muscle invasive bladder cancer. *Am J Pathol* 2012; 180: 1824-1834 [PMID: 22449953 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.01.023]
 - 20 Mross K, Frost A, Steinbild S, Hedbom S, Rentschler J, Kaiser R, Rouyre N, Trommeshauser D, Hoels CE, Munzert G. Phase I dose escalation and pharmacokinetic study of BI 2536, a novel Polo-like kinase 1 inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5511-5517 [PMID: 18955456 DOI: 10.1200/JCO.2008.16.1547]
 - 21 Feng YB, Lin DC, Shi ZZ, Wang XC, Shen XM, Zhang Y, Du XL, Luo ML, Xu X, Han YL, Cai Y, Zhang ZQ, Zhan QM, Wang MR. Overexpression of PLK1 is associated with poor survival by inhibiting apoptosis via enhancement of survivin level in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2009; 124: 578-588 [PMID: 19004025 DOI: 10.1002/ijc.23990]
 - 22 Wang XQ, Zhu YQ, Lui KS, Cai Q, Lu P, Poon RT. Aberrant Polo-like kinase 1-Cdc25A pathway in metastatic hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6813-6820 [PMID: 18980975 DOI: 10.1158/1078-0432]
 - 23 Lu LY, Wood JL, Minter-Dykhouse K, Ye L, Saunders TL, Yu X, Chen J. Polo-like kinase 1 is essential for early embryonic development and tumor suppression. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 6870-6876 [PMID: 18794363 DOI: 10.1128/MCB.00392-08]
 - 24 Rizki A, Mott JD, Bissell MJ. Polo-like kinase 1 is involved in invasion through extracellular matrix. *Cancer Res* 2007; 67: 11106-11110 [PMID: 18056432]
 - 25 Tan FL, Yin JQ. Application of RNAi to cancer research and therapy. *Front Biosci* 2005; 10: 1946-1960 [PMID: 15769676]
 - 26 Nogawa M, Yuasa T, Kimura S, Tanaka M, Kuroda J, Sato K, Yokota A, Segawa H, Toda Y, Kageyama S, Yoshiki T, Okada Y, Maekawa T. Intravesical administration of small interfering RNA targeting PLK-1 successfully prevents the growth of bladder cancer. *J Clin Invest* 2005; 115: 978-985 [PMID: 15761500]
 - 27 Santamaria A, Neef R, Eberspächer U, Eis K, Husemann M, Mumberg D, Prechtel S, Schulze V, Siemeister G, Wortmann L, Barr FA, Nigg EA. Use of the novel Plk1 inhibitor ZK-thiazolidinone to elucidate functions of Plk1 in early and late stages of mitosis. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 4024-4036 [PMID: 17671160]
 - 28 Lénárt P, Petronczki M, Steegmaier M, Di Fiore B,

- Lipp JJ, Hoffmann M, Rettig WJ, Kraut N, Peters JM. The small-molecule inhibitor BI 2536 reveals novel insights into mitotic roles of polo-like kinase 1. *Curr Biol* 2007; 17: 304-315 [PMID: 17291761]
- 29 Bu Y, Yang Z, Li Q, Song F. Silencing of polo-like kinase (Plk) 1 via siRNA causes inhibition of growth and induction of apoptosis in human esophageal cancer cells. *Oncology* 2008; 74: 198-206 [PMID: 18714168 DOI: 10.1159/000151367]
- 30 Sumimoto H, Kawakami Y. Lentiviral vector-mediated RNAi and its use for cancer research. *Future Oncol* 2007; 3: 655-664 [PMID: 18041918]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤中NF- κ B表达的影响

谢文瑞, 杨元生, 杨新魁, 陈 垦, 陈婧华, 崔淑兰, 王 晖

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)为临床常见的急腹症,起病急、病情重、病死率较高,且其发病机制目前尚未完全阐明,对AP的早期事件认识不够深入,诱导体外AP模型是研究的关键点。目前科研使用较多的胰腺腺泡细胞株为ARJ45细胞,与正常胰腺腺泡细胞存在一定差异,脂多糖和鱼蛙肽可用于诱导体外AP模型,体外胰腺腺泡细胞的获得是研究的关键。研究体外AP模型并予药物干预可为疾病的防治研究提供新的视窗。

谢文瑞, 广东药学院附属第一医院消化内科 广东省广州市 510080

杨元生, 广东药学院附属第二医院/新海医院消化内科 广东省广州市 510300

杨新魁, 广东医学院附属陈星海医院消化内科 广东省中山市 528415

陈 垦, 陈婧华, 广东药学院护理医学院 广东省广州市 510310

崔淑兰, 广东药学院附属门诊部 广东省广州市 510224

王 晖, 广东药学院中药学院药理学教研室 广东省广州市 510006

谢文瑞, 主治医师, 主要从事急性胰腺炎的治疗与发病机制的研究。广东省科技计划基金资助项目, No. 2007A060305007, No. 2007B031405004, No. 2012B060300029

广东省医学科研基金资助项目, No. B2012187

广东省中山市科技计划基金资助项目, No. 20102A124

作者贡献分布: 本论文由杨新魁与陈垦设计; 谢文瑞、杨元生及陈婧华完成实验; 数据统计分析与撰写论文; 崔淑兰与王晖负责审核。

通讯作者: 杨新魁, 教授, 主任医师, 528415, 广东省中山市高塘一街1号, 广东医学院附属陈星海医院消化内科。

cxhyy-hospital@163.com

电话: 0756-22287609

收稿日期: 2013-05-11 修回日期: 2013-06-02

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

PTD-NBD polypeptide down-regulates expression of NF- κ B p65 in inflammatory pancreatic acinar cell injury in rats

Wen-Rui Xie, Yuan-Sheng Yang, Xin-Kui Yang, Ken Chen, Jing-Hua Chen, Shu-Lan Cui, Hui Wang

Wen-Rui Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
Yuan-Sheng Yang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University/Xinhai Hospital, Guangzhou 510300, Guangdong Province, China

Xin-Kui Yang, Department of Gastroenterology, Chenxinghai Hospital Affiliated to Guangdong Medical College, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China

Ken Chen, Jing-Hua Chen, Nursing School, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Shu-Lan Cui, Department of Subsidiary Out-Patient, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510224, Guangdong Province, China

Hui Wang, Department of Pharmacology, College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Guangdong Province, Nos. 2007A060305007, 2007B031405004 and 2012B060300029; the Medical Science Project of Guangdong Province, No. B2012187; the

Science and Technology Project of Zhongshan of Guangdong Province, No. 20102A124

Correspondence to: Xin-Kui Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Chenxinghai Hospital Affiliated to Guangdong Medical College, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China. cxhyy-hospital@163.com

Received: 2013-05-11 Revised: 2013-06-02

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To examine the effect of PTD-NBD polypeptide on the expression of nuclear factor κ B (NF- κ B) p65 in inflammatory pancreatic acinar cell injury in rats.

METHODS: Rat pancreatic acinar cells were isolated, cultured, and divided into a normal control group, an acute pancreatitis (AP) group and a PTD-NBD polypeptides group. An *in vitro* model of AP was induced by treating rat pancreatic acinar cells with lipopolysaccharide (10 mg/L). Cell morphological changes were observed, and the contents of amylase, superoxide dismutase (SOD) and IL-1 β in culture medium were tested. Expression of NF- κ B p65 mRNA and protein in cells was detected by RT-PCR and Western blot 6 and 12 h after modeling, respectively.

RESULTS: Compared to the control group, pancreatic acinar cell swelling and death were increased (6 h: 8.9 ± 0.34 vs 1.1 ± 0.13 ; 12 h: 9.4 ± 0.26 vs 1.2 ± 0.15 , both $P < 0.05$), the contents of amylase (6 h: 2135.8 ± 347.2 vs 873.5 ± 91.6 ; 12 h: 3299.6 ± 217.7 vs 917.7 ± 101.9 , both $P < 0.05$) and IL-1 β (6 h: 84.9 ± 15.7 vs 39.3 ± 7.9 ; 12 h: 95.6 ± 17.1 vs 38.9 ± 5.2 , both $P < 0.05$) were increased and the contents of SOD were decreased in culture medium (6 h: 116.3 ± 30.3 vs 176.2 ± 21.6 ; 12 h: 101.5 ± 25.6 vs 173.6 ± 27.9 , $P < 0.05$), and the expression of NF- κ B p65 in pancreatic acinar cells was increased ($P < 0.05$) in the AP group at 6 and 12 h after modeling. Compared to the AP group, pancreatic acinar cell swelling and death were lessened (6 h: 6.8 ± 0.23 vs 8.9 ± 0.34 ; 12 h: 7.5 ± 0.19 vs 9.4 ± 0.26 , both $P < 0.05$), the contents of SOD were raised (6 h: 137.6 ± 27.4 vs 116.3 ± 30.3 ;

■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

12 h: 144.3 ± 23.6 vs 101.5 ± 25.6 , both $P < 0.05$) and the contents of amylase (6 h: 1951.5 ± 211.7 vs 2135.8 ± 347.2 ; 12 h: 1761.3 ± 231.5 vs 3299.6 ± 217.7 , both $P < 0.05$) and IL-1 β (6 h: 66.8 ± 11.6 vs 84.9 ± 15.7 ; 12 h: 54.8 ± 21.2 vs 95.6 ± 17.1 , both $P < 0.05$) were decreased in culture medium, and the expression of NF- κ B p65 mRNA and protein was down-regulated in the PAT-NBD polypeptide group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: PTD-NBD polypeptide can inhibit LPS-induced activation of NF- κ B p65, down-regulate IL-1 β expression and up-regulate SOD content, thereby reducing inflammatory pancreatic acinar cell injury.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Pancreatic acinar cells; Nuclear factor κ B; NBD polypeptide

Xie WR, Yang YS, Yang XK, Chen K, Chen JH, Cui SL, Wang H. PTD-NBD polypeptide down-regulates expression of NF- κ B p65 in inflammatory pancreatic acinar cell injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2136-2142 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2136.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2136>

摘要

目的: 探讨PTD-NBD多肽对体外大鼠胰腺腺泡细胞核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B) p65的表达影响。

方法: 分离培养大鼠胰腺腺泡细胞, 分为正常对照组、急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)组和PTD-NBD多肽组, 用脂多糖(10 mg/L)诱导体外细胞AP模型, 分别于建模6和12 h观察细胞形态学变化, 培养液中淀粉酶(amylase, AMY)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和白介素(interleukin, IL)-1 β 含量, RT-PCR和免疫印迹法检测细胞中NF- κ B p65 RNA及其蛋白表达。

结果: 与对照组相比, AP组各时间点腺泡细胞发生肿胀和死亡增多(细胞形态学评分: 6 h: 8.90 ± 0.34 vs 1.10 ± 0.13 ; 12 h: 9.40 ± 0.26 vs 1.20 ± 0.15 , $P < 0.05$), 培养液中AMY升高(6 h: 2135.8 ± 347.2 vs 873.5 ± 91.6 ; 12 h: 3299.6 ± 217.7 vs 917.7 ± 101.9 , $P < 0.05$), IL-1 β 含量升高(6 h: 84.9 ± 15.7 vs 39.3 ± 7.9 ; 12 h: 95.6 ± 17.1 vs 38.9 ± 5.2 , $P < 0.05$), SOD含量降低(6 h: 116.3 ± 30.3 vs 176.2 ± 21.6 ; 12 h: 101.5 ± 25.6 vs 173.6 ± 27.9 , $P < 0.05$), 细胞中NF- κ B p65 RNA及其蛋白表达量增多($P < 0.05$); 与AP组

比较, 经PAT-NBD多肽预处理后腺泡细胞出现肿胀和死亡减少(细胞形态学评分: 6 h: 8.80 ± 0.23 vs 8.90 ± 0.34 ; 12 h: 7.50 ± 0.19 vs 9.40 ± 0.26 , $P < 0.05$), 培养液中SOD上升(6 h: 137.6 ± 27.4 vs 116.3 ± 30.3 ; 12 h: 144.3 ± 23.6 vs 101.5 ± 25.6 , $P < 0.05$), AMY下降(6 h: 1951.5 ± 211.7 vs 2135.8 ± 347.2 ; 12 h: 1761.3 ± 231.5 vs 3299.6 ± 217.7 , $P < 0.05$), IL-1 β 含量明显下降(6 h: 66.8 ± 11.6 vs 84.9 ± 15.7 ; 12 h: 54.8 ± 21.2 vs 95.6 ± 17.1 , $P < 0.05$), NF- κ B p65蛋白表达降低($P < 0.05$)。

结论: PTD-NBD多肽透过大鼠胰腺腺泡细胞膜抑制脂多糖刺激的NF- κ B p65活化及其活性, 下调IL-1 β 表达, 上调SOD含量, 从而减轻胰腺腺泡细胞的炎症损伤。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 急性胰腺炎; 胰腺腺泡细胞; 核因子- κ B; NBD多肽

核心提示: 核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)参与胰腺腺泡细胞炎症损伤是急性胰腺炎(acute pancreatitis)的早期事件, PTD-NBD多肽可有效透过大鼠胰腺腺泡细胞膜, 并与细胞中NF- κ B活化通路上游I κ B激酶抑制物(inhibition of I κ B kinase)复合物中NBD区域结合, 减少下游炎症介质的生成和释放, 减轻胰腺腺泡细胞炎症损伤。

谢文瑞, 杨元生, 杨新魁, 陈垦, 陈婧华, 崔淑兰, 王晖. PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤中NF- κ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(22): 2136-2142 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2136.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2136>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是以胰腺腺泡细胞内的胰酶被激活、并发炎症反应介导腺泡细胞损伤为特征的临床常见急腹症, 左上腹痛是其临床特征, 早期全身炎症反应综合征和晚期感染并发的多器官功能衰竭是AP主要死因^[1-4]。核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)在各种炎症反应过程中均有重要作用, NF- κ B被过度活化导致炎症扩大, 产生大量促炎因子并释放入血, 导致胰腺组织损伤加剧, 但最直接的细胞学证据尚未见有报道^[5]。NBD多肽可与I κ B激酶抑制物(inhibition of I κ B kinase, IKK)NBD区域结合, 从而抑制其磷酸化, 最终抑制NF- κ B活化及其介导的炎症损伤^[6]。本文基于以上理论观察

■ 研究前沿

AP的研究多使用动物模型, 体外研究较少, 体外AP模型的建立依赖于胰腺腺泡细胞的成功分离培养, 而胰腺腺泡细胞与间质和胰岛细胞紧密相连, 分离提取胰腺腺泡细胞的方法有很多种, 但腺泡细胞易自身消化, 应用脂多糖诱导胰腺腺泡细胞体外AP模型存在一定难度。

■相关报道

已有研究表明NBD多肽的氨基酸序列可有效结合到NF- κ B上游IKK复合物的NBD区域,抑制I κ Ba的磷酸化及被降解,从而阻止了NF- κ B的活化及其通路的激活,减少下游炎症介质的产生和释放,最终减轻了细胞的炎症损伤,减少AP并发症和改善预后。

表 1 胰腺腺泡细胞形态学评分标准 (%)

细胞形态/评分标准	0分	1分	2分	3分	4分
细胞水肿、变形	<1	1-10	11-25	26-50	>51
细胞死亡、固缩裂解	<1	1-5	6-10	11-25	>26
细胞传代分布密度	>51	26-50	11-25	6-10	<5

PTD-NBD多肽对体外大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤及其NF- κ B表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 激光共聚焦显微细胞仪和Image-pro PLUS6.0(Meridian In. USA), 倒置相差显微镜(Olympus, In. Japan), CO₂培养箱(Biotech In. British), H-2050R-1低温超速离心机(California In. USA), 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和 I 型胶原酶(Sigma In. USA), Nikon Spot图像采集处理系统(Nikon & Spot In. USA), 琼脂糖(西班牙), DMEM/F12细胞培养基和小牛血清(Gibico In. USA), TRIzol kit(Invitrogen In.), RT-PCR kits、胰蛋白酶抑制剂、链霉素、青霉素、Percoll细胞分离液和山羊抗兔二抗(鼎国)、一抗NF- κ B P65(兔抗大鼠、Santa cruz), 内参 β -actin(兔抗大鼠、博奥森)细胞裂解液, 胰蛋白酶和IL-1 β Elisa kits(威佳)、AMS和SOD kits(南京建成), PAT-NBD多肽(西安美联生物), 其余设备和试剂均为国产。

1.2 方法

1.2.1 胰腺腺泡细胞的制备与培养: SD大鼠[购自广东省医学实验动物中心, 合格证号: SCXK(粤)2008-2002]术前禁食12 h, 不禁水。戊巴比妥钠麻醉大鼠后开腹取胰腺组织用D-Hanks液(37 °C)洗去血液, 剃除血管、脂肪及淋巴组织, 移入细胞分离液(37 °C, 5 mL)中, 剪碎(0.5-1.0 mm), CO₂孵箱(37 °C, 50 mL/L)中孵育30 min, 依次过100和200目尼龙筛网, D-Hanks液洗涤2-3次收集细胞悬液, 1000 r/min离心5 min, 弃去上清液, 重复洗涤2次, 利用差速黏附法(Percoll液)分离纯化胰腺腺泡细胞, 加入D-MEM/F12组织培养液(5 mL, pH 7.35-7.45), 重悬细胞后移入培养基(200 mL/L胎牛血清、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素), 调整细胞密度为 1×10^7 至 5×10^7 , 置入CO₂孵箱(37 °C、50 mL/L)中培养, 每3 d换1次液, 用0.125%胰酶+0.02%EDTA消化, 以1:3-1:4传代1次^[7]。

1.2.2 实验分组: 实验使用第20-25代对数生长期

细胞, 以 1×10^7 - 2×10^7 细胞/孔(1.8 mL)接种至6孔培养板, CO₂培养箱(50 mL/L, 37 °C)孵育6 h, 细胞贴壁后, 细胞随机分成3组: 正常对照组、AP组和PTD-NBD组。胰腺腺泡细胞炎症(AP)模型的诱导参照文献[8]: 即向正常胰腺腺泡细胞培养孔中分别加入0.2 mL的无血清无抗的培养基F12及100 mg/L浓度(终浓度10 mg/L)的LPS溶液, 刺激诱导胰腺腺泡细胞炎症模型(AP)。PTD-NBD多肽为蛋白转导多肽PTD与NBD多肽的融合性多肽其序列参考文献设计^[8]为YGRK-KRRQR-RR-G-TTLDWSWLQME, 由西安美联生物合成(编号: 1311450137)。PTD-NBD组腺泡细胞在被诱导AP模型之前先予PTD-NBD多肽(10 mg/L)预处理2 h后再分别加入0.2 mL的无血清无抗的培养基F12及100 mg/L浓度(终浓度10 mg/L)的LPS溶液建模。模型组细胞加入LPS后再与正常组一起放入CO₂培养箱(50 mL/L, 37 °C)分别孵育6和12 h后, 收集细胞和培养液上清备用, 提取细胞总蛋白, 置-20 °C备用, 每组设3个平行孔。

1.2.3 培养液淀粉酶、SOD和IL-1 β 含量测定: 收集齐各组细胞培养基上清液后统一按淀粉酶(amylase, AMY)和SOD检测参照试剂盒说明书操作进行, 上清液IL-1 β 含量测定严格按照双抗体夹心ELISA法试剂盒说明书操作进行, 所有实验操作均重复2次。

1.2.4 胰腺腺泡细胞活力测定与形态学观察: 观察3组大鼠胰腺腺泡细胞在不同培养条件下其形态学变化及其生长情况, 具体观察细胞水肿、变形、死亡、固缩、裂解、细胞密度等方面进行评分, 每份标本分别取3个视野观察, 由两个实验员进行双盲评分取均值进行统计分析(表1)。

1.2.5 RT-PCR检测NF- κ B p65 RNA表达: 将细胞培养基转移至10 mL离心管中, 低温低速(4 °C, 800 r/min)离心收集细胞(20 μ L PCV = 10^7 cells), 将细胞转移至玻璃匀浆器中匀浆, 每20 μ L PCV加入1000 μ L细胞裂解液, 常温反应5 min, 离心(4 °C, 12000 r/min)10 min后去上清液, 具体操

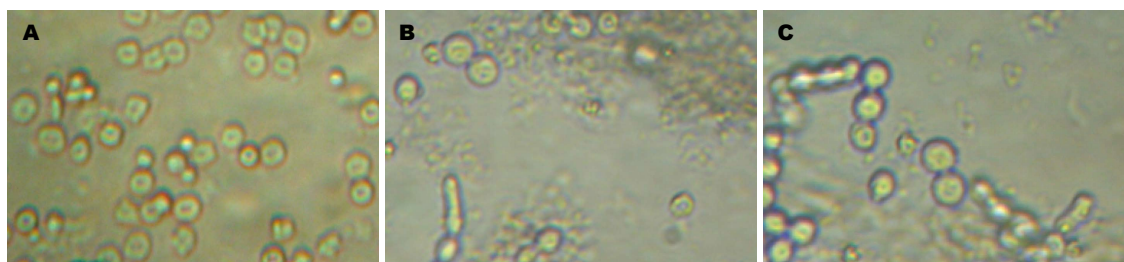


图 1 3组胰腺腺泡细胞培养12 h的结果比较. A: 正常对照组; B: AP组; C: PTD-NBD多肽组. AP: 急性胰腺炎.

■创新盘点

本文应用脂多糖诱导体外分离培养的大鼠胰腺腺泡细胞AP模型进行AP早期事件研究具有一定的创新性; 构建体外AP模型对AP治疗药物的研发有重要意义.

作按TRIzol试剂盒说明书提取细胞总RNA, 紫外分光光度计测定样品 A_{260} 值和 A_{280} 值, 计算RNA的纯度和含量, 1%琼脂糖凝胶电泳检测总RNA完整性. 引物设计参考文献[9], NF- κ B p65: 上游5'-CAAAGACCCACCTCACCG-3', 下游5'-ATCAGAAGGCCGCCGAA-3'(Gene Number: 40538869), 产物长度598 bp; β -actin: 上游5'-GCCAACCGTGAAAAGATGA-3', 下游5'-GC-CAGGATAGAGCCACCAAT-3'(Gene Number: 424759362), 产物701 bp. 采用两步法进行反转录扩增目的基因, 具体操作按照RT-PCR试剂盒说明书进行, RT反应条件: 30 $^{\circ}$ C, 10 min, 42 $^{\circ}$ C RT 60 min, 95 $^{\circ}$ C(变性) 5 min, 4 $^{\circ}$ C终止RT反应5 min, -20 $^{\circ}$ C冰箱冻存备用或立即PCR; PCR反应条件: NF- κ B p65: 94 $^{\circ}$ C, 5 min, 94 $^{\circ}$ C, 35 s, 56 $^{\circ}$ C, 45 s, 72 $^{\circ}$ C, 50 s共35个循环, 72 $^{\circ}$ C延长10 min; β -actin: 94 $^{\circ}$ C, 5 min, 94 $^{\circ}$ C, 35 s, 55 $^{\circ}$ C, 50 s, 72 $^{\circ}$ C, 55 s共35个循环, 72 $^{\circ}$ C延长10 min, PCR产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳分离. Quantity 4.5.1软件分析, 结果以待测样品及其对应内参的相对值表示.

1.2.6 Western blot检测NF- κ B p65蛋白表达: 将细胞培养基转移至10 mL离心管中, 低温低速(4 $^{\circ}$ C, 800 r/min)离心收集细胞(20 μ L PCV = 10^7 cells), 将细胞转移至玻璃匀浆器中匀浆, 每50 μ L PCV加入400 μ L细胞裂解液, 冰上反应10 min, 离心(4 $^{\circ}$ C, 12000 r/min)10 min后取上清液, 具体操作按蛋白提取试剂盒说明书进行. BCA法蛋白定量并计算出样品蛋白浓度, 取40 μ g蛋白为上样量, 6%浓缩胶和10%分离胶电泳分离蛋白质, 湿胶电转移凝胶蛋白至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉液封闭PVDF膜(RT, 2 h), 一抗NF- κ B p65(1 : 300), 孵育(RT, 2 h), TBST洗膜3次, 二抗(1 : 8000)孵育(RT, 1.5 h), TBST洗膜3次, ECL法发光, 暗盒曝光、显影、定影, 采用美国Nikon Spot图像采集处理系统, 用Image-pro PLUS6.0专业图像工具进行图像灰度分析, 计算平均光密度(A)值. 内参 β -actin(1 : 500)Western blot步骤同上, 以上操

表 2 胰腺腺泡细胞形态学评分结果

分组	正常对照组	AP组	PTD-NBD组
6 h	1.1 \pm 0.13	8.9 \pm 0.34 ^a	6.8 \pm 0.23 ^{ac}
12 h	1.2 \pm 0.15	9.4 \pm 0.26 ^a	7.5 \pm 0.19 ^{ac}

^a P <0.05 vs 正常组; ^c P <0.05 vs AP组. AP: 急性胰腺炎.

作均重复2次.

统计学处理 实验数据用SPSS16.0统计软件处理分析, 计量资料分析采用 t 检验, 数据用mean \pm SD表示; 采用单因素方差分析(ANOVA), 预先进行正态性检验和方差齐性检验, 如方差齐用LSD检验, 非正态分布或方差不齐者, 以lg(X+1)进行变量代换, 检验水准 $\alpha = 0.05$, P <0.05表示有统计学意义.

2 结果

2.1 胰腺腺泡细胞变化比较 正常胰腺腺泡细胞多呈圆形或椭圆形, 悬浮生长较旺盛, 细胞密度高, 培养液中可见散在少许细胞凋亡固缩、裂解成碎片(图1A); 而AP组见多数胰腺腺泡细胞肿胀、变大, 呈球形, 可见大量细胞肿胀坏死而裂解成碎片, 部分细胞核固缩, 细胞生长传代差, 正常细胞密度低(图1B); 经PTD-NBD预处理后细胞肿胀较AP组细胞减轻, 细胞坏死裂解数量和核固缩现象减少, 细胞生长呈串珠状较AP组好, 细胞密度较AP组高(图1C), 与AP组比较有显著差异(表2, 图1, 2, P <0.05).

2.2 培养液淀粉酶、SOD和IL-1 β 含量变化 正常组培养液中AMY和IL-1 β 含量较低, 而SOD水平较高, 但在AP组和PTD-NBD多肽组各时间点培养液中AMY和IL-1 β 含量均明显升高, 同组12 h点的AMY水平均较6 h点高(P <0.05), 而培养液中SOD含量在AP组和PTD-NBD组均明显下降, AP组下降更显著, 与正常组比较有统计学差异(P <0.05); 胰腺腺泡细胞经PTD-NBD预处理后大鼠腺泡细胞损伤减轻, 与AP组比较, 培养液中

■同行评价

本文成功建立体外AP模型对研究AP发病机制有重要作用,应用PTD-NBD多肽透过细胞膜选择性抑制I κ B的磷酸化从而为抑制NF- κ B的活化,减轻炎症反应和减少细胞损伤具有一定的现实意义,为临床治疗AP药物的研发提供了思路。

表 3 各组培养液中AMY、SOD和IL-1 β 水平变化情况 (mean \pm SD)

分组	AMY (U/L)		SOD (μ mol/L)		IL-1 β (ng/L)	
	6 h	12 h	6 h	12 h	6 h	12 h
正常组	873.5 \pm 91.6	917.7 \pm 101.9	176.2 \pm 21.6	173.6 \pm 27.9	39.3 \pm 7.9	38.9 \pm 5.2
AP组	2135.8 \pm 347.2 ^a	3299.6 \pm 217.7 ^{ac}	116.3 \pm 30.3	101.5 \pm 25.6 ^{ac}	84.9 \pm 15.7	95.6 \pm 17.1 ^{ac}
PTD-NBD组	1951.5 \pm 211.7 ^a	1761.3 \pm 231.5 ^{ac}	137.6 \pm 27.4	144.3 \pm 23.6 ^{ac}	66.8 \pm 11.6	54.8 \pm 21.2 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 同组6 h点. AMY: 淀粉酶; SOD: 超氧化物歧化酶; AP: 急性胰腺炎; IL: 白介素。

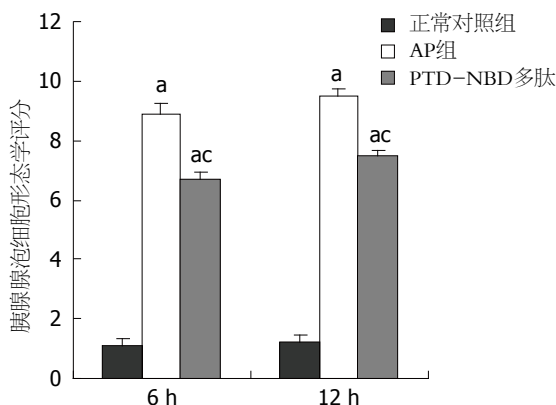


图 2 胰腺腺泡细胞形态学评分。 ^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs AP组. AP: 急性胰腺炎。

AMY和IL-1 β 含量下降,而SOD水平上升,12 h点结果较6 h更明显($P < 0.05$,表3)。

2.3 胰腺腺泡细胞NF- κ B p65 RNA及其蛋白表达 正常组胰腺腺泡细胞中可见有极少量NF- κ B p65 RNA和蛋白表达,随着培养时间延长,其表达量稍有增多,但两个时间点间无统计学差异;AP组和PTD-NBD多肽组胰腺腺泡细胞受LPS刺激后NF- κ B p65 RNA和蛋白表达水平均有不同程度上调,而且12 h点比6 h点升高明显($P < 0.05$);与AP组比较,PTD-NBD处理后胰腺腺泡细胞中NF- κ B p65 RNA和蛋白表达被抑制,二者表达量下降,在12 h时最为明显($P < 0.05$,图3)。

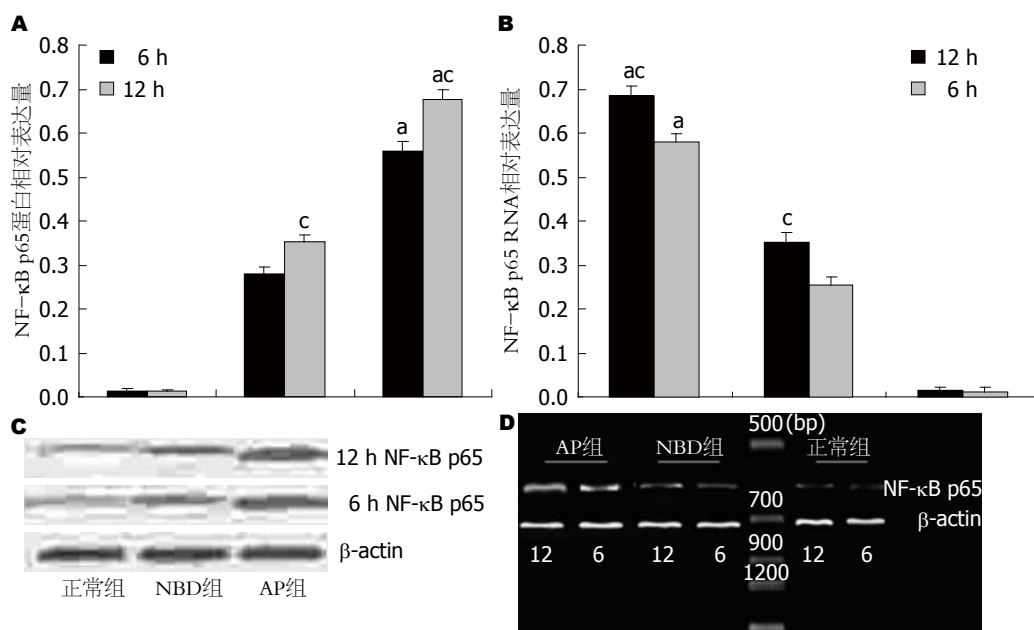
3 讨论

AP是以各种胰酶被激活引起胰腺局部炎症反应为特征的炎症性疾病^[10]。炎症损伤胰腺腺泡细胞是AP的早期事件,细胞死亡解体后释放出各种消化酶和更多炎症因子、氧化应激因子及氧自由基等,最终使疾病恶化发展^[11]。大约10%-15%可能进展为重急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),并且其中有约10%-30%可能死于SAP相关并发症,如胰腺出血、坏死,伴发全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征^[12,13]。炎症损伤是引起其严重并发症和高死亡率的重要因素,

早期控制炎症反应是治疗的关键。

NF- κ B参与众多炎症性疾病的发生发展,NF- κ B参与调节众多炎症因子[肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-1 β 及ICAM-1等]的基因转录、分泌^[14-17]。LPS可直接作用于胰腺腺泡细胞使细胞水肿,出现膜空泡化及胞质膜的断裂,核改变,腺细胞和溶酶体的破坏,使胰腺炎相关蛋白、炎症因子和AMY表达增加,可触发全身炎症反应和多器官功能衰竭的发生。随着胰腺腺泡细胞炎症的加重,NF- κ B被激活逐渐增多,我们的前期实验表明LPS刺激肿瘤株胰腺腺泡细胞(AR42J)后,NF- κ B被活化上调ICAM-1表达,而ICAM-1的表达又正反馈调节继续激活NF- κ B,使炎症信号和细胞因子反应得以持续放大,导致病情加重^[9]。我们将LPS(10 mg/L)加入培养基中诱导大鼠胰腺腺泡细胞体外AP模型,显微镜下观察发现加入LPS 6 h后腺泡细胞出现肿胀、空泡化,12 h时大量腺泡细胞出现肿胀,部分出现死亡裂解,细胞传代明显减少,检测培养液发现AMS和IL-1 β 升高明显,而SOD下降显著,进一步检测发现腺泡细胞中NF- κ B p65表达量增多,与正常对照组比较有统计学差异,结果提示胰腺腺泡细胞出现了严重的损伤(图1,3,表2,3)。

在NF- κ B活化通路上游的激酶IKK复合物中存在一个氨基酸序列调节亚基即NBD区,是ATP水解部位,能与NBD多肽氨基酸序列相结合,从而干扰细胞内IKK复合物的形成,抑制IKK复合物对I κ B α 的磷酸化降解,选择性负性调控NF- κ B激活及其下游细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1等)的表达^[18-20]。PTD是一类能将其其他生物大分子导入多种哺乳动物细胞的小分子阳离子多肽,能够将与之共价连接的多肽、蛋白、核酸等生物大分子快速而高效地转导入细胞内部,且对细胞无不良反应,在药物转运及疾病治疗等领域有着广阔的应用前景^[21-23]。通过PTD介导转运一种IL-1 β 诱导的I κ B酶(IKK)多肽抑制剂,即IKK β (NBD),并完全阻断IL-1 β 对胰



同行评价
本文有助于进一步明确大鼠胰腺腺泡细胞炎症损伤的调控机制, 具有一定的科学价值。

图 3 NF- κ B p65蛋白及其RNA在3组细胞中的表达变化比较. A: NF- κ B p65蛋白变化统计图; B: NF- κ B p65 RNA表达变化统计图; C: NF- κ B p65蛋白变化; D: NF- κ B p65 RNA表达变化. NF- κ B: 核因子- κ B; AP: 急性胰腺炎。

岛功能的有害作用和NF- κ B的活性^[24]。导入外源性NBD多肽封闭IKK复合物NBD区, 抑制催化亚基IKK α 和IKK β 的 κ B位点激活, 使IKK激酶的活性下降, 从而阻断炎症性疾病的发展, NBD多肽可轻度上调NF- κ B的基础生理功能^[25]。我们前期的研究显示NBD多肽经PTD修饰后(PTD-NBD, 0.1 mg/L)可直接作用肿瘤株胰腺腺泡细胞(AR42J)呈疗效依赖性抑制LPS诱导的IL-1 β 和ICAM-1升高介导的细胞炎症损伤, 而NBD多肽突变型经PTD修饰后仍无此作用^[8], 表明NBD多肽发挥抗炎作用依赖其特异的氨基酸序列, 这为AP早期细胞事件的研究及治疗药物的研发开启了新的思路。氧自由基(oxygen free radical, OFR)促进胰腺腺泡细胞凋亡, 然而抑制OFR产生又导致ATP减少并发胰腺坏死增加^[26], 大鼠SAP胰腺组织中NF- κ B过度激活, OFR生成增加, NBD多肽预处理可抑制NF- κ B过度活化, 减少OFR产生, 从而减轻胰腺局部炎症和氧化损伤^[27-29], 抗氧化应激治疗对AP是有益的, 但目前尚无充足的临床数据可以证明^[30]。本实验结果显示NBD多肽可有效提高细胞抗氧化应激能力, 稳定细胞膜, 减轻细胞损伤。由于AR42J为肿瘤株与正常细胞株存在差异, 本实验应用大鼠胰腺腺泡细胞, 经过PTD-NBD多肽预处理后再与LPS诱导AP模型, 结果显示培养液中AMS、IL-1 β 含量下降, SOD含量升高, 细胞中NF- κ B p65蛋白表达减少, 细胞的炎症和氧化损伤减轻, 细

胞肿胀和坏死数量减少, 细胞传代成活率较AP组好, 与AP组比较有统计学差异。

总之, 预先给予PTD-NBD多肽干预可有效透过大鼠胰腺腺泡细胞膜, 并与细胞中NF- κ B活化通路上游IKK复合物中NBD区域结合, 从而抑制IKK α 的磷酸化及NF- κ B的活化, 减少下游炎症介质IL-1 β 的生成和释放, 从而减轻细胞炎症损伤, 降低SOD的消耗和减少AMS的释放, 最终缩短病程和减少并发症, 然而PTD-NBD多肽对AP事后效应及其远期疗效尚需进一步实验研究。

4 参考文献

- Boone B, Zureikat A, Hughes SJ, Moser AJ, Yadav D, Zeh HJ, Lee KK. Abdominal compartment syndrome is an early, lethal complication of acute pancreatitis. *Am Surg* 2013; 79: 601-607 [PMID: 23711270]
- Bollen TL, Singh VK, Maurer R, Repas K, van Es HW, Banks PA, Morteale KJ. A comparative evaluation of radiologic and clinical scoring systems in the early prediction of severity in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 612-619 [PMID: 22186977 DOI: 10.1038/ajg.2011.438]
- Arabul M, Celik M, Aslan O, Torun S, Beyazit Y, Alper E, Kandemir A, Dcnsal B. Hepcidin as a predictor of disease severity in acute pancreatitis: a single center prospective study. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 595-600 [PMID: 23665668 DOI: 10.5754/hge12770]
- Pavlidis P, Crichton S, Lemmich Smith J, Morrison D, Atkinson S, Wyncoll D, Ostermann M. Improved outcome of severe acute pancreatitis in the intensive care unit. *Crit Care Res Pract* 2013; 2013: 897107

- [PMID: 23662207 DOI: 10.1155/2013/897107]
- 5 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325]
 - 6 Long YM, Chen K, Liu XJ, Xie WR, Wang H. Cell-permeable Tat-NBD peptide attenuates rat pancreatitis and acinus cell inflammation response. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 561-569 [PMID: 19195057]
 - 7 葛全兴, 陈垦. 一种简便高效的大鼠胰腺腺泡细胞的体外分离培养方法及其对细胞功能的影响. 广东药学院, 2010; 1-39
 - 8 刘学进, 龙友明, 陈垦, 谢文瑞, 王晖. PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎性反应的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 19: 1931-1935
 - 9 刘学进, 陈垦, 龙友明, 林振河, 谢文瑞. 核因子- κ B在脂多糖诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J炎性效应中的作用. 胰腺病学 2006; 4: 204-207
 - 10 Ma B, Wu L, Lu M, Gao B, Qiao X, Sun B, Xue D, Zhang W. Differentially expressed kinase genes associated with trypsinogen activation in rat pancreatic acinar cells treated with taurochenodeoxycholic acid 3-sulfate. *Mol Med Rep* 2013; 7: 1591-1596 [PMID: 23467886 DOI: 10.3892/mmr.2013.1355]
 - 11 Yenicerioglu A, Cetinkaya Z, Girgin M, Ustundag B, Ozercan IH, Ayten R, Kanat BH. Effects of trimetazidine in acute pancreatitis induced by L-arginine. *Can J Surg* 2013; 56: 175-179 [PMID: 23484468 DOI: 10.1503/cjs.032811]
 - 12 Vaz J, Akbarshahi H, Andersson R. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 616-630 [PMID: 23431068 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.616]
 - 13 Zhao G, Zhang JG, Wu HS, Tao J, Qin Q, Deng SC, Liu Y, Liu L, Wang B, Tian K, Li X, Zhu S, Wang CY. Effects of different resuscitation fluid on severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2044-2052 [PMID: 23599623 DOI: 10.3748/wjg.v19.i13.2044]
 - 14 Wen CL, Chang CC, Huang SS, Kuo CL, Hsu SL, Deng JS, Huang GJ. Anti-inflammatory effects of methanol extract of *Antrodia cinnamomea* mycelia both in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol* 2011; 137: 575-584 [PMID: 21704694 DOI: 10.1016/j.jep.2011.06.009]
 - 15 Santos SH, Andrade JM, Fernandes LR, Sinisterra RD, Sousa FB, Feltenberger JD, Alvarez-Leite JJ, Santos RA. Oral Angiotensin-(1-7) prevented obesity and hepatic inflammation by inhibition of resistin/TLR4/MAPK/NF- κ B in rats fed with high-fat diet. *Peptides* 2013; 46C: 47-52 [PMID: 23714175 DOI: 10.1016/j.peptides.2013.05.010]
 - 16 Wullaert A, Bonnet MC, Pasparakis M. NF- κ B in the regulation of epithelial homeostasis and inflammation. *Cell Res* 2011; 21: 146-158 [PMID: 21151201 DOI: 10.1038/cr.2010.175]
 - 17 Tieri P, Termanini A, Bellavista E, Salvio S, Capri M, Franceschi C. Charting the NF- κ B pathway interactome map. *PLoS One* 2012; 7: e32678 [PMID: 22403694 DOI: 10.1371/journal.pone.0032678]
 - 18 Baima ET, Guzova JA, Mathialagan S, Nagiec EE, Hardy MM, Song LR, Bonar SL, Weinberg RA, Selness SR, Woodard SS, Chrencik J, Hood WF, Schindler JF, Kishore N, Mbalaviele G. Novel insights into the cellular mechanisms of the anti-inflammatory effects of NF-kappaB essential modulator binding domain peptides. *J Biol Chem* 2010; 285: 13498-13506 [PMID: 20167598 DOI: 10.1074/jbc.M109.099895]
 - 19 Madge LA, May MJ. Inhibiting proinflammatory NF-kappaB signaling using cell-penetrating NEMO binding domain peptides. *Methods Mol Biol* 2009; 512: 209-232 [PMID: 19347279 DOI: 10.1007/978-1-60327-530-9_11]
 - 20 Desai A, Singh N, Raghubir R. Neuroprotective potential of the NF- κ B inhibitor peptide IKK-NBD in cerebral ischemia-reperfusion injury. *Neurochem Int* 2010; 57: 876-883 [PMID: 20868715 DOI: 10.1016/j.neuint.2010.09.006]
 - 21 Trabulo S, Cardoso AL, Cardoso AM, Morais CM, Jurado AS, Pedrosa de Lima MC. Cell-penetrating peptides as nucleic acid delivery systems: from biophysics to biological applications. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 2895-2923 [PMID: 23140453]
 - 22 Nasrollahi SA, Taghibiglu C, Azizi E, Farhoud ES. Cell-penetrating peptides as a novel transdermal drug delivery system. *Chem Biol Drug Des* 2012; 80: 639-646 [PMID: 22846609 DOI: 10.1111/cbdd.12008]
 - 23 吴永红, 张成岗. HIV-1TAT蛋白转导肽的研究进展. 中国生物工程杂志 2010; 30: 66-73
 - 24 Rehman KK, Bertera S, Bottino R, Balamurugan AN, Mai JC, Mi Z, Trucco M, Robbins PD. Protection of islets by in situ peptide-mediated transduction of the Ikappa B kinase inhibitor Nemo-binding domain peptide. *J Biol Chem* 2003; 278: 9862-9868 [PMID: 12524423]
 - 25 Solt LA, Madge LA, May MJ. NEMO-binding domains of both IKKalpha and IKKbeta regulate IkappaB kinase complex assembly and classical NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 2009; 284: 27596-27608 [PMID: 19666475 DOI: 10.1074/jbc.M109.047563]
 - 26 Booth DM, Murphy JA, Mukherjee R, Awais M, Neoptolemos JP, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Petersen OH, Sutton R, Criddle DN. Reactive oxygen species induced by bile acid induce apoptosis and protect against necrosis in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology* 2011; 140: 2116-2125 [PMID: 21354148 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.054]
 - 27 谢文瑞, 陈垦, 阳小雅, 龙友明, 王晖, 刘君君, 杨剑. 核因子- κ B在急性胰腺炎中的激活及NBD多肽的干预作用. 世界华人消化杂志 2008; 18: 1980-1984
 - 28 Giakoustidis A, Mudan SS, Giakoustidis D. Dissecting the stress activating signaling pathways in acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 653-656 [PMID: 20698244]
 - 29 Hackert T, Werner J. Antioxidant therapy in acute pancreatitis: experimental and clinical evidence. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 2767-2777 [PMID: 21834688 DOI: 10.1089/ars.2011.4076]
 - 30 Esrefoglu M. Experimental and clinical evidence of antioxidant therapy in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5533-5541 [PMID: 23112545 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5533]

编辑 田滢 电编 闫晋利



miR-30d反义核苷酸对结肠癌细胞增殖及凋亡的影响

张善忠, 周毅, 刘芩, 汪志飞, 万冰

张善忠, 周毅, 刘芩, 汪志飞, 万冰, 景德镇市第一人民医院
胃肠外科 江西省景德镇市 333000

张善忠, 主治医师, 主要从事结肠癌的临床及基础研究.

作者贡献分布: 此课题由张善忠设计; 研究过程由周毅、刘芩、汪志飞及万冰操作完成; 研究所需标本由刘芩收集; 荧光定量PCR和Western blot由周毅完成; 流式细胞术由汪志飞完成; 细胞生长与克隆形成实验由万冰完成; 数据分析由张善忠完成; 本论文写作由张善忠完成.

通讯作者: 张善忠, 主治医师, 333000, 江西省景德镇市中华北路317号, 景德镇市第一人民医院胃肠外科. luolaibin6677@163.com
收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-05-31

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

A miR-30d antisense oligonucleotide inhibits proliferation and promotes apoptosis of colon cancer cells

Shan-Zhong Zhang, Yi Zhou, Qin Liu, Zhi-Fei Wang, Bing Wan

Shan-Zhong Zhang, Yi Zhou, Qin Liu, Zhi-Fei Wang, Bing Wan, Department of Gastrointestinal Surgery, the First People's Hospital of Jingdezhen, Jingdezhen 333000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Shan-Zhong Zhang, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the First People's Hospital of Jingdezhen, 317 Zhonghua North Road, Jingdezhen 333000, Jiangxi Province, China. luolaibin6677@163.com

Received: 2013-05-07 Revised: 2013-05-31

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of miR-30d in colon cancer tissues and the effect of a miR-30d antisense oligonucleotide (ASO) on the proliferation and apoptosis of colon cancer cells.

METHODS: The expression of miR-30d in 102 colon cancer tissues and matched tumor-adjacent tissues was detected by real-time quantitative PCR. After colon cancer cells were transfected with a miR-30d ASO, cell proliferation and apoptosis were measured by MTT assay, colony formation assay and flow cytometry.

RESULTS: miR-30d was overexpressed in 52.94% (54/102) of colon cancer tissues, and the positive rate of miR-30d overexpression was sig-

nificantly higher in colon cancer tissues than in tumor-adjacent colon tissues ($P < 0.05$). Transfection of miR-30d ASO significantly reduced the expression of miR-30d ($P < 0.05$), decreased cell survival at 24, 48 and 96 h (all $P < 0.05$), inhibited colony formation ($P < 0.05$), and increased apoptosis ($P < 0.05$) compared with control cells. In addition, the expression of Bcl-2 mRNA and protein was significantly decreased after the expression of miR-30d was down-regulated.

CONCLUSION: MiR-30d is overexpressed in human colon cancer. Inhibition of the expression of miR-30d can effectively inhibit growth and promotes apoptosis of colon cancer cells. MiR-30d may become a new target for the regulation of gene expression in colon cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: miR-30d; Antisense oligonucleotide; colon cancer; Cell proliferation; Apoptosis

Zhang SZ, Zhou Y, Liu Q, Wang ZF, Wan B. A miR-30d antisense oligonucleotide inhibits proliferation and promotes apoptosis of colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2143-2150 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2143.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2143>

摘要

目的: 研究miR-30d在结直肠癌组织中的表达情况, 并分析miR-30d反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)对结肠癌细胞增殖和凋亡的影响.

方法: 运用荧光定量PCR定量检测102例结直肠癌组织及对应癌旁组织中miR-30d的表达; 通过miR-30d ASO降低结肠癌细胞中miR-30d的表达, 利用MTT、细胞克隆形成实验、流式细胞技术观察miR-30d ASO对结肠癌细胞产生的生物学效应.

结果: 在102例结直肠癌病例中, 52.94% (54/102)的结直肠癌组织miR-30d表达明显高于对癌旁组织($P < 0.05$); miR-30d ASO可

■背景资料

微小RNA分子(microRNA, miRNA)是一种内源性的非编码小分子RNA, 广泛分布于动植物细胞体内, 大量研究发现miRNA在恶性肿瘤细胞的发生、发展中发挥重要的作用, 其中包括调控细胞的增殖、分化和凋亡.

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科; 刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

■ 研发前沿

近年随着miR-NAs研究的不断深入,发现大量异常表达的miR-NAs通过调控靶基因的表达而调节包括结肠癌在内的多种恶性肿瘤的发生发展,大规模的筛选肿瘤发生发展过程中异常表达的miR-NAs将为人们全面认识肿瘤的生物学特性发挥重要作用,也为结肠癌的早期诊治提供了新的希望。

以显著降低miR-30d的表达($P<0.05$); MTT实验结果显示结肠癌细胞转染miR-30d ASO后, 24、48和96 h的细胞存活数量均明显低于空白对照组和转染无义干扰组($P<0.05$); 克隆形成实验结果显示miR-30d ASO组克隆形成率比空白对照组和转染无义干扰组显著降低($P<0.05$); 流式细胞仪检测结果显示转染miR-30d ASO组较两个对照组细胞凋亡指数明显增加($P<0.05$); 另外,降低miR-30d的表达后发现Bcl-2 mRNA和蛋白均明显下降($P<0.05$)。

结论: miR-30d在结肠癌组织中表达上调,降低miR-30d的表达可有效抑制结肠癌细胞生长、促进细胞凋亡。miR-30d有可能成为结肠癌基因表达调控的新靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: miR-30d; 反义单核苷酸; 结肠癌; 细胞增殖; 细胞凋亡

核心提示: miR-30d在结肠癌组织中表达上调,降低miR-30d的表达可有效抑制结肠癌细胞生长、促进细胞凋亡。miR-30d有可能成为结肠癌基因表达调控的新靶点。

张善忠, 周毅, 刘芩, 汪志飞, 万冰. miR-30d反义核苷酸对结肠癌细胞增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2143-2150 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2143.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2143>

0 引言

微小RNA分子(microRNA, miRNA)是一种内源性的非编码小分子RNA,广泛分布于动植物细胞体内,大量研究发现miRNA在恶性肿瘤细胞的发生、发展中发挥重要作用,其中包括调控细胞的增殖、分化和凋亡^[1-8]。研究报道miR-30d在前列腺癌、肾细胞癌以及肝癌等恶性肿瘤中表达上调^[9-11]。过表达的miR-30d可以促进肝癌细胞发生发展^[11]。然而miR-30d在结肠癌中的表达及功能研究尚未见报道。本实验采用荧光定量PCR的方法检测miR-30d在结直肠癌组织中的表达情况,同时设计并利用miR-30d的反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)抑制miR-30d在结肠癌细胞中的表达,研究抑制miR-30d对结肠癌细胞增殖和凋亡的影响,同时分析其调控的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 经景德镇市第一人民医院医学伦理委员会批准及患者知情同意,收集2008-01/2012-12

景德镇市第一人民医院胃肠外科肠癌及对应癌旁组织手术标本($n = 102$)。所有标本均经病理学检查确诊,其中男68例,女34例,年龄26-71岁。所有患者术前均未接受放化疗。结肠癌SW480和LoVo细胞购自中国科学院上海细胞库; Taq-Man miRNA分析试剂盒(美国ABI公司); DMEM高糖培养基(美国Gibco公司)、胎牛血清(美国Hyclone公司)、脂质体Lipfectamine 2000(美国Invitrogen公司); 反义miR-30d寡核苷酸(miR-30d ASO)(大连宝生物公司); Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒(南京凯基公司); 总蛋白提取试剂盒(北京普利莱); 鼠抗人Bcl-2单克隆抗体(美国Santa cruz公司), β -actin二抗(北京中杉金桥公司); 实时荧光定量PCR分析仪(美国ABI公司); 流式细胞仪(美国BD公司)。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量PCR检测miR-30d的表达: 采用RNA提取试剂提取癌组织及癌旁组织中总RNA,测定浓度, -80°C 保存。运用miRNA分析试剂盒检测miR-30d的表达。首先取2 μg 总RNA为反应模板与3 μL 逆转录酶相互混合,反应体系为20 μL ,反应条件为: 16°C 30 min, 45°C 30 min, 85°C 5min。反应结束后,收集cDNA。采用SYBR Green法定量检测,将质粒稀释品分别梯度稀释为 1×10^{-1} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-7} 和 1×10^{-8} ,用于建立标准曲线。反应条件: 95°C 15 min; 95°C 30 s, 60°C 30 s, 72°C 30 s,共45个循环,最后 72°C 延伸7 min。在每个循环的最后增加溶解曲线。阈值定义为基础荧光信号的10个标准差,即时循环数为Ct,依据标准曲线计算目的基因的mRNA量。实验重复3次。

1.2.2 反义miR-30d单核苷酸的设计: 获取人miR-30d的序列(<http://www.sanger.ac.uk/software/Rfam/mirna>),设计其反义寡核苷酸序列,运用NCBI BLAST索程序以排除其他的同源序列。另外,同时设计一条随机阴性对照序列,如下所示: 反义miR-30d sense: 5'-CAUUGCCAGUC-GUUACGUGUC-3', antisense: 5'-GACACGTA-ACGACTGGCAATG-3', 随机序列: sense: 5'-UC-CUCUGAACGUGGCACGUUT-3'; antisense: 5'-AGCUCACCTCGUCCGCAGTATT-3',送上海英骏生物技术公司合成。

1.2.3 细胞培养和反义寡核苷酸转染: 将SW480和LoVo结肠癌细胞接种于DMEM培养基(含10%FBS), 50 mL/L CO_2 、 37°C 条件下培养。运

用Lipfectamine™ 2000转染试剂盒进行转染, 反义miR-30d寡核苷酸终浓度分别为: 100、150、200和250 nmol/L. 本实验组筛选出最佳终干扰浓度为150 nmol/L. 转染后培养时间分别为24、48、72 h初步筛选出最佳作用时间为48 h. 上述操作重复3次.

1.2.4 转染miR-30d ASO后对miR-30d表达的影响: 转染终浓度为150 nmol/L的miR-30d ASO 48 h后, 提取总RNA, 测定浓度, 逆转录为cDNA(反应条件同1.2.1), 测定cDNA浓度. 运用microRNA检测试剂盒检测miR-30d的表达(具体条件同1.2.1). 上述操作重复3次.

1.2.5 克隆形成实验检测结肠癌细胞的增殖: 实验分为3组: 空白对照组、转染无义干扰组和miR-30d ASO组. 转染结肠癌SW480和LoVo细胞后, 取对数生长期的细胞接种于6孔培养板中, 约400-500个/孔, 置37℃、50 mL/L CO₂, 培养2-3 wk. 期间观察培养细胞的生长情况, 当出现肉眼可见的克隆细胞团时, 终止细胞培养. 去上清, PBS漂洗2次. 固定20 min, 去固定液, 加Giemsa染色液染色30 min, 之后利用ddH₂O清洗染色液, 干燥后在普通光学显微镜下计算>50个细胞的克隆数, 克隆形成率 = 克隆数/接种细胞数 × 100%. 上述操作重复3次.

1.2.6 MTT检测结肠癌细胞生长情况: 实验分组同1.2.5, 收集各组SW480和LoVo细胞, 将细胞充分打匀, 接种于96孔培养板(6 × 10³/孔), 24 h后换液. 每组设有6个复孔. 转染后第1天至第4天, 每孔加入MTT试剂(浓度为5 mg/mL)20 μL, 在50 mL/L CO₂、37℃条件下继续孵育4 h. 去各孔上清, 滴入DMSO每孔150 μL, 在室温摇10 min, 以完全溶解MTT结晶. 测定各孔吸光度(A)值(波长490 nm). 每组重复3次. 按下列公式计算细胞生长抑制率(%): 细胞生长抑制率 = (实验组平均A₄₉₀-对照组平均A₄₉₀)/对照组平均A₄₉₀ × 100%上述操作重复3次.

1.2.7 流式细胞术分析细胞早期凋亡: 实验分组同1.2.5, 将结肠癌细胞接种于6孔板中, 转染反义miR-30d ASO. 48 h后收集细胞, PBS漂洗2次, 离心、弃上清. 最后运用Annexin V-FITC早期凋亡试剂盒和流式细胞仪检测各组细胞的早期凋亡情况. 上述操作重复3次.

1.2.8 检测各组细胞Bcl-2 mRNA的表达水平: 实验分组同1.2.5, 各组细胞加入裂解液, 提取总RNA, 逆转录为cDNA, 运用SYBR Green Real

Time PCR Master Mix通过荧光定量PCR方法检测Bcl-2 mRNA表达. Bcl-2的引物序列为上游: 5'-AACTGGGGGAGGATTGTGGC-3'; 下游: 5'-GATCCAGGTGTGCAGGTGCC-3'. 反应条件: 95℃变性45 s, 58℃退火45 s, 72℃延伸30 s, 40个循环. 以GAPDH作为内参. 在ABI7500反应平台上进行PCR反应.

1.2.9 检测各组细胞Bcl-2蛋白的表达水平: 实验分组同1.2.5, 收集各组结肠癌细胞, 运用总蛋白提取试剂盒提取总蛋白, 经10%SDS-PAGE电泳后转膜, 将膜放在含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中37℃封闭2 h, 加一抗稀释液1:600稀释鼠抗人Bcl-2单克隆抗体, 4℃过夜, 1×TBST缓冲液洗3次(每次10 min), 加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG(1:5000稀释), 置于37℃孵育2 h, 1×TBST缓冲液洗3次(每次10 min), 运用ECL化学发光法检测目的蛋白条带. 以β-actin作为内参.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行分析. 计量资料以mean ± SD表示, 癌及癌旁组织比较采用配对样本t检验, 多组均数之间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD-t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 结肠癌组织miR-30d的表达情况 利用荧光定量PCR检测102例结直肠癌患者癌及癌旁组织中miR-30d的表达, 结果发现: 52.94%(54/102)例结直肠癌组织miR-30d的表达明显高于相对应的正常癌旁组织, 结果有统计学意义($t = 26.57$, $P < 0.05$)(图1).

2.2 转染miR-30d ASO后对miR-30d表达的影响 荧光定量PCR方法检测结果发现: SW480细胞转染miR-30d ASO组miR-30d的相对表达量较空白对照组和转染无义干扰组明显降低(组间 $F = 292.43$, $P < 0.05$); LoVo细胞同样发现miR-30d ASO组miR-30d的相对表达量较空白对照组和转染无义干扰组明显下调(组间 $F = 341.32$, $P < 0.05$)(图2).

2.3 降低miR-30d的表达对结肠癌细胞存活率的影响 MTT检查结果发现: SW480细胞转染miR-30d ASO组的生长较空白对照组和转染无义干扰组明显降低($P < 0.05$), 而空白对照组和转染无义干扰组细胞生长情况无明显差别($P > 0.05$). LoVo细胞与SW480细胞结果一致(图3).

2.4 降低miR-30d的表达结肠癌细胞增殖的影响

■ 相关报道

研究报道miR-30d在前列腺癌、成神经管细胞瘤以及肝癌等恶性肿瘤中表达上调. 过表达miR-30d的表达可以促进在肝癌细胞中的发生发展. 然而miR-30d在结肠癌中的表达及功能研究尚未见报道.

■创新盘点

本研究首次检测miR-30d在结肠癌中呈过表达,同时发现miR-30d在结肠癌细胞的生长中发挥着非常重要的作用。

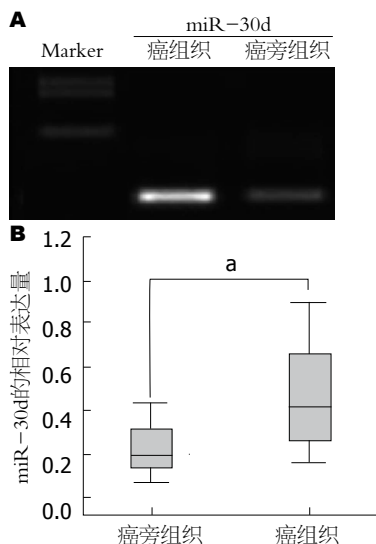


图1 PCR检测102例患者结肠癌及对应的癌旁组织miR-30d的表达。A: miR-30d的PCR扩增图; B: 盒状图, $P < 0.05$ 。

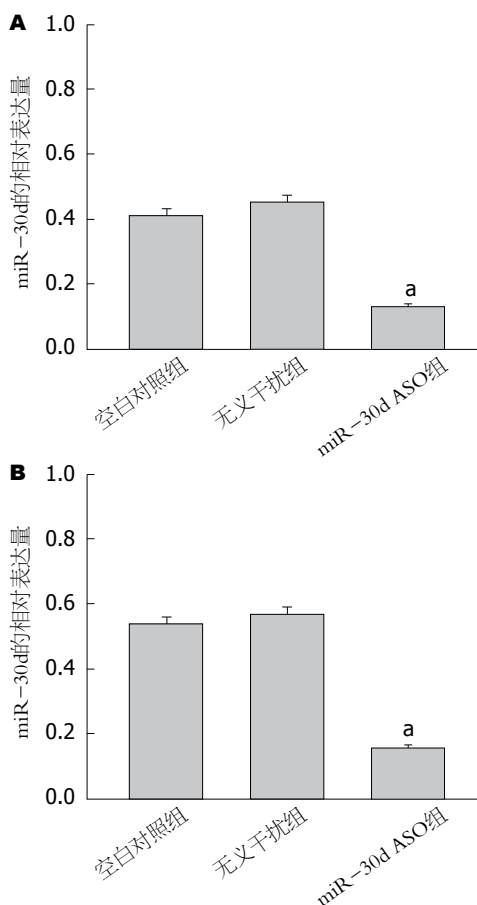


图2 转染miR-30d ASO后SW480和LoVo细胞miR-30d的表达变化。A: SW480细胞; B: LoVo细胞, $P < 0.05$ vs 空白对照组、无义干扰组。ASO: 反义寡核苷酸。

克隆形成实验结果提示: miR-30d ASO转染SW480细胞后, 克隆形成率比空白对照组和转染无义干扰组明显降低($P < 0.05$)。LoVo细胞与SW480细胞结果一致(图4)。

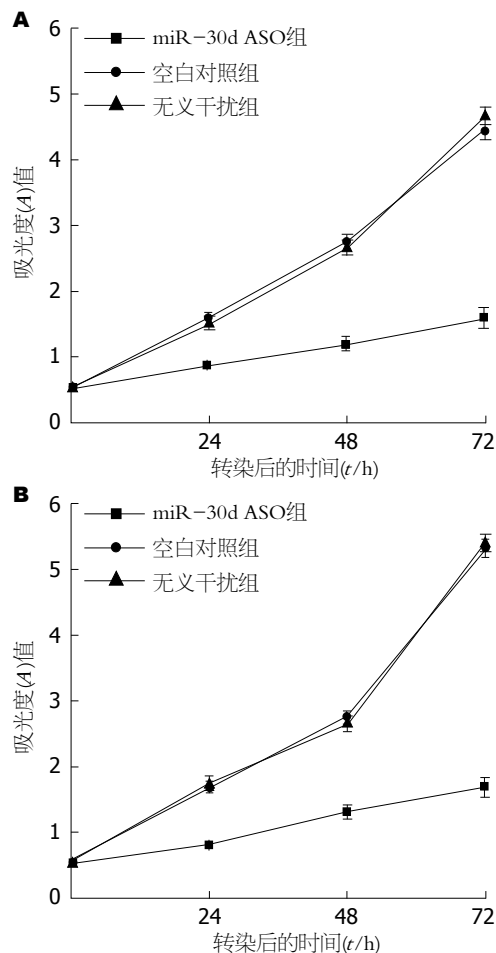


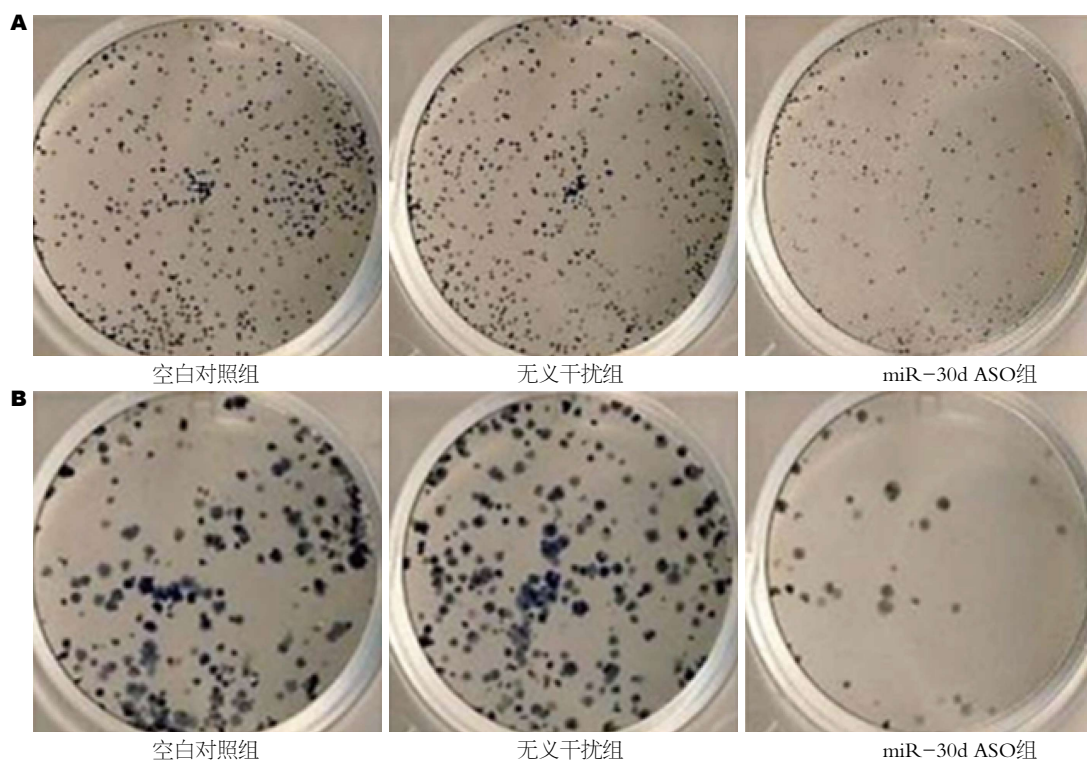
图3 转染miR-30d ASO后, SW480和LoVo细胞的生长情况变化。A: SW480细胞; B: LoVo细胞。ASO: 反义寡核苷酸。

2.5 降低miR-30d的表达对结肠癌细胞凋亡的影响 结肠癌细胞SW480转染miR-30d ASO后, 流式细胞仪检测细胞凋亡的结果显示: miR-30d ASO组的凋亡指数增加明显($P < 0.05$)。LoVo细胞与SW480细胞结果一致(图5)。

2.6 降低miR-30d的表达对Bcl-2 mRNA和Bcl-2蛋白表达的影响 miR-30d ASO转染SW480和LoVo细胞后, 利用荧光定量PCR和Western blot检查各组细胞中Bcl-2 mRNA和Bcl-2蛋白表达水平, 结果发现miR-30d ASO组Bcl-2 mRNA和Bcl-2蛋白的相对表达水平明显低于空白对照组和转染无义干扰组($P < 0.05$)(图6, 7)。

3 讨论

研究已经证实miRNAs是一类新的基因调节子, 其在控制细胞的生长、发育、分化、新生血管形成和凋亡等生物学过程中发挥着非常重要的作用^[12,13]。随着miRNA的发现以及逐渐深入的研究, 研究发现miRNAs与癌症的发生及侵袭转移关联紧密^[14,15]。因此miRNAs有可能成为诊断



■应用要点
miR-30d在调控结肠癌细胞的增殖和凋亡方面发挥重要作用, 其很可能成为一个结肠癌新的癌前标志物, 为结肠癌临床基因治疗提供新的靶点。

图4 转染miR-30d ASO后, SW480和LoVo细胞克隆形成率明显降低. A: SW480细胞; B: LoVo细胞. ASO: 反义寡核苷酸.

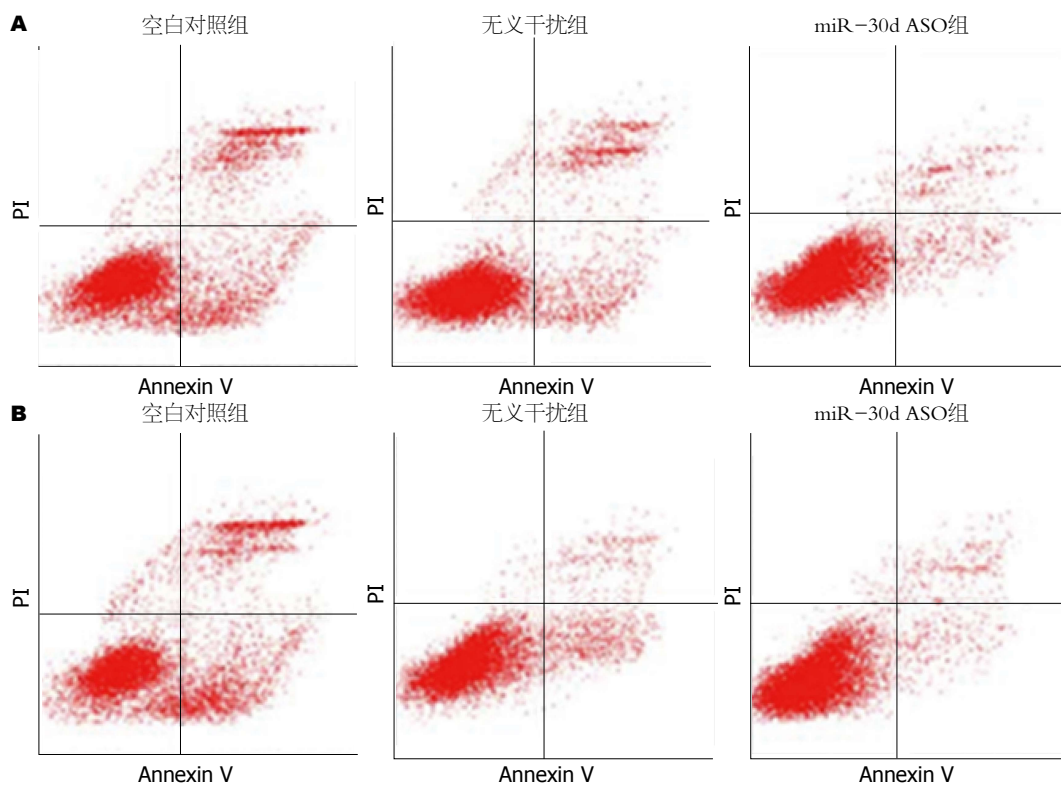


图5 流式细胞仪检测miR-30d ASO转染后的SW480和LoVo细胞凋亡情况. A: SW480细胞; B: LoVo细胞. ASO: 反义寡核苷酸.

恶性肿瘤的分子标志和判断肿瘤侵袭转移及预后的分子靶点, 此外miRNAs在转录后水平调节其靶基因的表达, 这将更有助于癌症的早期发现、早期诊断和早期治疗, 其必将具有非常广

阔的临床应用前景.

结直肠癌是世界上我国乃至世界上最常见的恶性肿瘤之一, 尤其常见于西方发达国家^[16-27], 在中国结直肠癌发病率的增长速度是全世界平

■ 名词解释

反义寡核苷酸: 人工合成的, 与靶基因或mRNA某一区段互补的核酸片段, 可以通过碱基互补原则结合于靶基因/mRNA上, 从而封闭基因的表达。

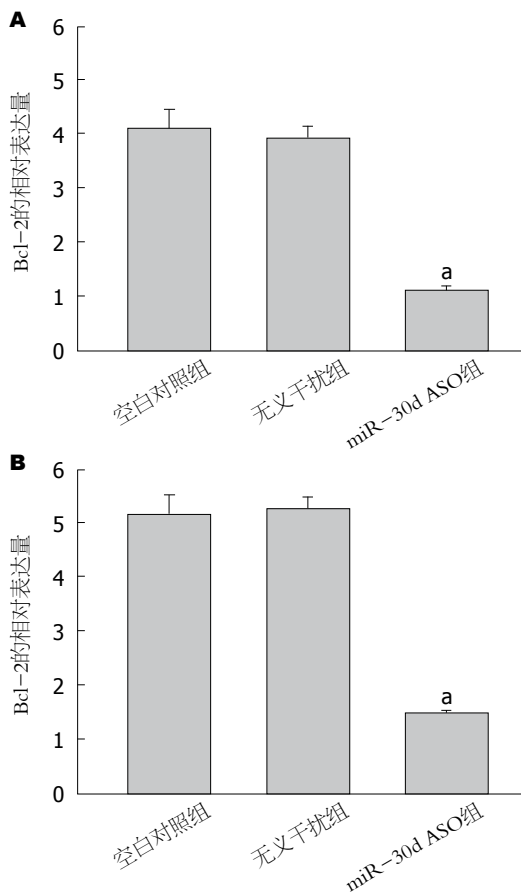


图 6 Bcl-2 mRNA在转染miR-30d ASO的SW480和LoVo细胞中的表达变化. A: SW480细胞; B: LoVo细胞. ^a $P < 0.05$ vs 空白对照组、无义干扰组. ASO: 反义寡核苷酸。

均增长水平的2倍^[16]。结直肠癌的发生过程比较缓慢, 多数是由于结直肠黏膜发生病变然后逐渐发展为腺瘤状息肉, 最后演变成具有侵袭转移特性的恶性肿瘤。如果早期诊断和治疗, 结直肠患者生存率可高达90%。但由于结直肠早期临床表现并无特异性, 几乎所发现的结直肠患者大约50%以上属于临床晚期, 治疗效果不理想。因此, 我们迫切地需要找到新的肿瘤标志物来进一步提高结直肠癌的早期诊疗效果。近年随着miRNAs研究的不断深入, 发现大量异常表达的miRNAs通过调控靶基因的表达而调节包括结肠癌在内的多种恶性肿瘤的发生发展, 大规模地筛选肿瘤发生发展过程中异常表达的miRNAs将为人们全面认识肿瘤的生物学特性发挥重要作用, 也为结肠癌的早期诊治提供了新的希望。最近研究发现miR-30d在前列腺癌及肝癌等恶性肿瘤中的表达上调^[9-11], 但miR-301在结直肠癌中的表达及其作用目前还不清楚。

本实验首先利用实时荧光定量PCR检测临床结直肠癌标本和对应的正常癌旁组织, 结果

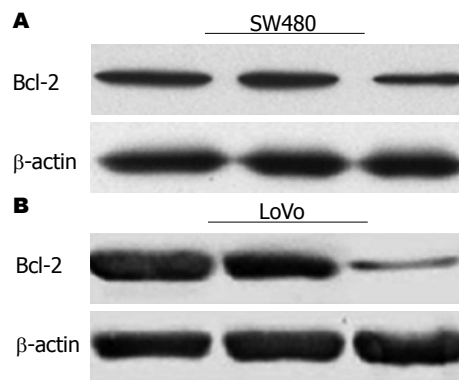


图 7 Bcl-2蛋白在转染miR-30d ASO的SW480和LoVo细胞中的表达变化. A: SW480细胞; B: LoVo细胞. ASO: 反义寡核苷酸。

发现miR-30d在肿瘤组织中呈明显高表达, 两者差异具有统计学意义。这表明miR-30d在结肠癌发生发展中发挥重要作用。目前有大量研究针对目的miRNA设计相应的ASO来研究miRNA在细胞中的生物学功能^[28-30]。为了进一步分析miR-30d对结肠癌细胞功能的影响, 本实验首先通过转染miR-30d ASO降低结肠癌细胞中miR-30d的表达, 同时利用MTT方法检测降低miR-30d的表达后结肠癌细胞生长情况, 结果发现转染miR-30d ASO的结肠癌细胞存活率明显降低。此外我们运用克隆形成实验还观察到转染miR-30d ASO后, 结肠癌细胞克隆形成率比空白对照组和无义干扰组明显减少。表明miR-30d在结肠癌细胞的生长中发挥着非常重要的作用。

为了进一步分析降低miR-30d表达对结肠癌细胞凋亡情况的影响, 本实验运用流式细胞技术检测细胞凋亡情况, 结果发现转染miR-30d ASO组细胞凋亡较对照组明显增加。因为Bcl-2与细胞凋亡的关系密切。为证实miR-30d对结肠癌细胞凋亡的影响是否与Bcl-2相关, 本实验通过检测miR-30d ASO组和对照组Bcl-2 mRNA和蛋白变化, 结果发现转染miR-30d ASO组Bcl-2 mRNA和蛋白水平明显降低。这表明miR-30d可能通过调节Bcl-2的表达而影响细胞的凋亡, 从而进一步达到对肿瘤细胞增殖能力的调控。

总之, miR-30d在调控结肠癌细胞的增殖和凋亡方面发挥重要作用, 其很可能成为一个结肠癌新的癌前标志物, 为结肠癌临床基因治疗提供新的靶点。

4 参考文献

- 1 Raisch J, Darfeuille-Michaud A, Nguyen HT. Role of microRNAs in the immune system, inflammation

- and cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2985-2996 [PMID: 23716978 DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.2985]
- 2 Soga D, Yoshida S, Shiogama S, Miyazaki H, Kondo S, Shintani S. microRNA expression profiles in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 30: 579-583 [PMID: 23708842 DOI: 10.3892/or.2013.2488]
 - 3 Luo W, Nie Q, Zhang X. MicroRNAs involved in skeletal muscle differentiation. *J Genet Genomics* 2013; 40: 107-116 [PMID: 23522383 DOI: 10.1016/j.jgg.2013.02.002]
 - 4 Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol Rev* 2011; 91: 827-887 [PMID: 21742789 DOI: 10.1152/physrev.00006.2010]
 - 5 Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 704-714 [PMID: 19763153 DOI: 10.1038/nrg2634]
 - 6 Munker R, Calin GA. MicroRNA profiling in cancer. *Clin Sci (Lond)* 2011; 121: 141-158 [PMID: 21526983 DOI: 10.1042/CS20110005]
 - 7 Vejnar CE, Blum M, Zdobnov EM. miRmap web: comprehensive microRNA target prediction online. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: W165-W168 [PMID: 23716633 DOI: 10.1093/nar/gkt430]
 - 8 Yu DC, Li QG, Ding XW, Ding YT. Circulating MicroRNAs: Potential Biomarkers for Cancer. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 2055-2063 [PMID: 21673939 DOI: 10.3390/ijms12032055]
 - 9 Wu C, Jin B, Chen L, Zhuo D, Zhang Z, Gong K, Mao Z. MiR-30d induces apoptosis and is regulated by the Akt/FOXO pathway in renal cell carcinoma. *Cell Signal* 2013; 25: 1212-1221 [PMID: 23416459 DOI: 10.1016/j.cellsig]
 - 10 Kobayashi N, Uemura H, Nagahama K, Okudela K, Furuya M, Ino Y, Ito Y, Hirano H, Inayama Y, Aoki I, Nagashima Y, Kubota Y, Ishiguro H. Identification of miR-30d as a novel prognostic marker of prostate cancer. *Oncotarget* 2012; 3: 1455-1471 [PMID: 23231923]
 - 11 Yao J, Liang L, Huang S, Ding J, Tan N, Zhao Y, Yan M, Ge C, Zhang Z, Chen T, Wan D, Yao M, Li J, Gu J, He X. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 846-856 [PMID: 20054866 DOI: 10.1002/hep.23443]
 - 12 Sarver AL, French AJ, Borralho PM, Thayanithy V, Oberg AL, Silverstein KA, Morlan BW, Riska SM, Boardman LA, Cunningham JM, Subramanian S, Wang L, Smyrk TC, Rodrigues CM, Thibodeau SN, Steer CJ. Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer* 2009; 9: 401 [PMID: 19922656 DOI: 10.1186/1471-2407-9-401]
 - 13 Marchi S, Pinton P. Mitochondrial calcium uniporter, MiRNA and cancer: Live and let die. *Commun Integr Biol* 2013; 6: e23818 [PMID: 23713134 DOI: 10.4161/cib.23818]
 - 14 Yi B, Piazza GA, Su X, Xi Y. MicroRNA and cancer chemoprevention. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 401-409 [PMID: 23531448 DOI: 10.1158/1940-6207]
 - 15 Harquail J, Benzina S, Robichaud GA. MicroRNAs and breast cancer malignancy: an overview of miRNA-regulated cancer processes leading to metastasis. *Cancer Biomark* 2012; 11: 269-280 [PMID: 23248185 DOI: 10.3233/CBM-120291]
 - 16 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu JQ, Thum MJ. Cancer statistics 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66 [PMID: 17237035 DOI: 10.3322/canjclin.57.1.43]
 - 17 Sameer AS. Colorectal cancer: molecular mutations and polymorphisms. *Front Oncol* 2013; 3: 114 [PMID: 23717813 DOI: 10.3389/fonc.2013.00114]
 - 18 Wu Q, Shi Y, Chen L, Xiao X, Dai G. Effect and safety of bevacizumab-containing chemotherapy treatment in Chinese patients with metastatic colorectal cancer. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 485-490 [PMID: 23671391 DOI: 10.2147/OTT.S41449]
 - 19 Mohan HM, Evans MD, Larkin JO, Beynon J, Winter DC. Multivisceral Resection in Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Ann Surg Oncol* 2013 May 11. [Epub ahead of print] [PMID: 23666095 DOI: 10.1245/s10434-013-2967-9]
 - 20 Gomez D, De Rosa A, Addison A, Brooks A, Malik HZ, Cameron IC. Cetuximab therapy in the treatment of metastatic colorectal cancer: The future frontier? *Int J Surg* 2013; 11: 507-513 [PMID: 23660586 DOI: 10.1016/j.ijsu.2013.04.014]
 - 21 Voorham QJ, Rondagh EJ, Knol DL, van Engeland M, Carvalho B, Meijer GA, Sanduleanu S. Tracking the molecular features of nonpolypoid colorectal neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1042-1056 [PMID: 23649184 DOI: 10.1038/ajg.2013.126]
 - 22 Serra-Sutton V, Serrano CB, Carreras ME. Quality indicators to assess a colorectal cancer prevention program. *Int J Technol Assess Health Care* 2013; 29: 166-173 [PMID: 23587309 DOI: 10.1017/S0266462313000020]
 - 23 Di Lena M, Travaglio E, Altomare DF. New strategies for colorectal cancer screening. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1855-1860 [PMID: 23569331 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1855]
 - 24 Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, Berry DA. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control* 2013; 24: 1207-1222 [PMID: 23563998 DOI: 10.1007/s10552-013-0201-5]
 - 25 Xiang H, Wang Y, Nie S. Meta-analysis of the association between insulin-like growth factor binding protein 3 genetic polymorphisms and colorectal cancer susceptibility. *PLoS One* 2013; 8: e59665 [PMID: 23527244 DOI: 10.1371/journal.pone.0059665]
 - 26 Tanis PJ, Doeksen A, van Lanschot JJ. Intentionally curative treatment of locally recurrent rectal cancer: a systematic review. *Can J Surg* 2013; 56: 135-144 [PMID: 23517634 DOI: 10.1503/cjs.025911]
 - 27 Yang TX, Morris DL, Chua TC. Pelvic exenteration for rectal cancer: a systematic review. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 519-531 [PMID: 23478621 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31827a7868]
 - 28 Nielsen TO, Sorensen S, Dagnæs-Hansen F, Kjems J, Sorensen BS. Directing HER4 mRNA expression towards the CYT2 isoform by antisense oligonucleotide decreases growth of breast cancer cells in vitro and in vivo. *Br J Cancer* 2013; 108: 2291-2298 [PMID: 23695025 DOI: 10.1038/bjc.2013.247]
 - 29 Mitropant C, Porensky P, Zhou H, Price L, Muntoni F, Fletcher S, Wilton SD, Burghes AH. Improved antisense oligonucleotide design to suppress aberrant SMN2 gene transcript processing: towards a treatment for spinal muscular atrophy. *PLoS One* 2013; 8: e62114 [PMID: 23630626 DOI: 10.1371/

■同行评价

本文检测miR-30d mRNA在结肠癌组织中的表达, miR-30d反义核苷酸对结肠癌细胞增殖及凋亡的影响, 对结肠癌的治疗有重要理论指导意义。

- journal.pone.0062114]
30 Sypniewski D, Bednarek I, Gałka S, Loch T,
Błaszczak D, Sołtysik D. Cytotoxicity of etoposide

in cancer cell lines in vitro after BCL-2 and C-RAF
gene silencing with antisense oligonucleotides. *Acta
Pol Pharm* 2013; 70: 87-97 [PMID: 23610963]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

肾素-血管紧张素系统在肝纤维化中作用的研究进展

李爽

李爽, 天津市第二人民医院肝病II科 天津市 300192
李爽, 主治医师, 主要从事慢性肝炎、肝硬化诊断及治疗的研究。
作者贡献分布: 本文由李爽独立完成。
通讯作者: 李爽, 主治医师, 300192, 天津市南开区苏堤路75号, 天津市第二人民医院肝病II科. ronnie112233@163.com
收稿日期: 2013-04-21 修回日期: 2013-06-26
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Role of the renin-angiotensin system in liver fibrosis

Shuang Li

Shuang Li, Hepatic Disease Department of Hepatology (Division II), Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China

Correspondence to: Shuang Li, Attending Physician, Hepatic Disease Department of Hepatology (Division II), Tianjin Second People's Hospital, Tianjin 300192, China. ronnie112233@163.com

Received: 2013-04-21 Revised: 2013-06-26

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

Hepatic fibrosis is characterized by progressive inflammation and deposition of extracellular matrix components. Several recent studies have demonstrated that the rennin-angiotensin system (RAS) plays a key role in hepatic fibrosis. In this review, we provide a comprehensive update of the role of the RAS in the pathogenesis of hepatic fibrosis. We will discuss the profibrotic mechanisms activated by the RAS. Studies that have utilized angiotensin receptor blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors to modulate the RAS to ameliorate hepatic fibrosis will also be discussed.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fibrosis; Cholangiocytes; Hepatic stellate cells; Renin-angiotensin system

Li S. Role of the renin-angiotensin system in liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2151-2157
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2151.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2151>

摘要

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是继发于各种

慢性肝损伤之后组织修复过程中的代偿反应,其特征是进行性炎症和细胞外基质成分的沉积。近年来研究显示,肾素-血管紧张素系统(rennin-angiotensin system, RAS)在HF中发挥着重要作用。本综述提供了目前最新的关于RAS在肝纤维化发病机制中作用的研究结论。同时也讨论了血管紧张素受体阻断剂和血管紧张素转换酶类药物在通过调节RAS以改善肝纤维化水平中的作用。旨在为HF的预防和治疗提供一个新思路。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝纤维化; 胆管细胞; 肝星状细胞; 肾素-血管紧张素系统

核心提示: 肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是慢性肝炎向肝硬化发展的重要病理过程。肾素-血管紧张素系统在其进展中起主要作用。除对肝星状细胞、kuffer细胞有调节作用外,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)同样对胆管上皮细胞产生影响,并参与了胆管纤维化的进展。而针对RAS系统进行治疗也许会为HF的预防和治疗提供一个新思路。

李爽. 肾素-血管紧张素系统在肝纤维化中作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(22): 2151-2157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2151.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2151>

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是继发于各种慢性肝损伤之后组织修复过程中的代偿反应,涉及多种细胞因子、炎症趋化因子、生长因子,打破了肝脏内的稳态平衡,表现为肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)大量活化增殖、形态转变肌成纤维细胞、细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)过度沉积等^[1-3]。如无有效的治疗措施,随着病情的发展将破坏正常的肝脏结构与功能,最终发展成为肝硬化而出现肝脏功能的衰退, HF是慢性肝炎向肝硬化发展的重要病理过程^[4]。最新的动物模型和临床研究表明,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system,

■背景资料

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是继发于各种慢性肝损伤之后组织修复过程中的代偿反应,是慢性肝炎向肝硬化发展的重要病理过程。在众多影响HF的因素中,肾素-血管紧张素系统在HF的进展中起主要作用。

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 许戈良, 教授, 安徽省立医院

■研究前沿

肾素-血管紧张素系统(rennin-angiotensin system, RAS)在HF的进展中起主要作用,而动物实验表明血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂的应用都可减轻HF。那么上述药物是否可用于临床抗HF的治疗,成为目前的研究热点。

RAS)在HF的进展中起主要作用^[5,6]。在动物研究中显示,作为RAS系统主要活性肽的血管紧张素 II (angiotensin II, ANG II)可促进在HF中其重要作用的星状细胞的活化与增殖^[7,8]。动物实验表明,血管紧张素 II 1型受体(angiotensin type 1 receptor, AT1)的缺乏,以及血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)抑制剂或血管紧张素受体阻断剂(angiotensin receptor blockers, ARBs)的应用都可减轻HF^[9,10]。在这篇综述中,我们将讨论RAS系统的研究现状及其在HF过程中所起的作用。此外我们也将讨论通过调节RAS系统来改善HF程度的治疗方案。

1 HF机制

HF的特征改变是肝脏内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度沉积。目前的研究证实,肝星形细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的激活是HF发生的中心环节。HF链式反应是一个多因素参与的过程:(1)HSCs和Kf细胞的活化;(2)HSCs的移行和增殖;(3)细胞外基质的合成和沉积;(4)瘢痕收缩;(5)HSCs的凋亡^[11]。研究显示有一系列的细胞因子和生长因子在HSCs活化过程中扮演着重要的角色,如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF-I)和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)以及活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)^[12]。然而,众所周知PDGF和TGF- β 是HSCs增殖和纤维化的最有力的刺激因子^[3]。HSCs的活化及纤维化机制已被多篇文章所提及,在这里就不再一一赘述了。

然而,越来越多的证据表明,胆管上皮细胞的增殖在以胆管纤维化为特征的胆汁淤积性慢性肝病中发挥着重要作用^[13]。最新的证据表明,增殖的胆管上皮细胞通过神经内分泌调节在肝病进展过程中发挥作用,如其可分泌并接受激素、神经递质及神经肽的调节,通过自分泌和旁分泌的形式对肝脏的炎症、纤维化及胆管癌的发生进行正负调节^[14]。这些神经内分泌表型细胞的激活,类似于HSCs在HF中的作用,在胆汁淤积性肝病(如PBC、PSC)的胆管纤维化中发挥着重要作用,在这些疾病过程中,作为靶细胞的胆管上皮细胞的增殖和/或凋亡都会增加^[15,16]。许多研究显示,胆管上皮细胞会分泌促纤维化因子,如结缔组织生长因子(connective tissue

growth factor, CTGF)、TGF- β 2和肝内皮素,这表明增殖的胆管上皮细胞在胆管纤维化中发挥着重要的作用^[17,18]。

最近研究表明,RAS系统在包括肝脏在内的多脏器纤维化过程中发挥多因素作用^[19,20]。HSCs和胆管上皮细胞都可以分泌RAS成分,促进HF发展的进程^[21]。通过调节RAS系统来抑制HSCs及胆管上皮细胞可延缓纤维化的发展。

2 内分泌(经典的)RAS和局部RAS

内分泌(经典的)RAS系统在调节血压、电解质及体液平衡中发挥着重要作用。血管紧张素原在肾素的作用下水解生成十肽的血管紧张素 I (Angiotensin I, ANG I), ANG I 没有活性在ACE的作用下水解为有活性的ANG II, ANG II是RAS系统的主要生理活性成分^[22]。

近年来许多研究显示,很多器官如心、肾、肝、胰腺等都具有局部RAS系统^[23]。而某些器官的局部RAS系统并不表达所有的经典RAS系统的成分^[24]。有几种不同的酶途径用于ANG II的合成,其中包括血管紧张素 II 产生酶(chymotrypsin-sensitive ANG II-generating enzyme, CAGE),组织蛋白酶G(cathepsin G)和糜蛋白酶(chymase)。局部RAS的一个作用循环中ANG II的作用,尤其在受心血管调控的组织中。局部RAS的分泌有助于RAS抑制剂多效性的解释^[24]。

ANG II的生物学效应受2个7次跨膜G蛋白偶联受体调节(AT1和AT2),其中AT1广泛分布于肝脏、肾上腺、脑、肺、肾、心脏和血管系统,ANG II的大部分生物学效应都与之有关^[25]。激活AT1受体的结果动脉张力增加,肾上腺醛固酮分泌,肾钠重吸收增加,交感神经递质和细胞生长。近期研究显示,ANG II是炎症进展的重要影响因素。AT1和AT2作为ANG II的受体据有相反的作用。例如,激活AT1可刺激血管收缩和细胞增殖,而AT2受体则可介导血管舒张,抑制细胞生长和激活细胞凋亡。

经典的RAS模式在1980年ANG(1-7)被发现时受到了挑战,他被证明据有多样化的生物学作用^[26,27]。随后的研究确定了几个新的RAS成分,如ACE2催化生成的Ang II(1-7)和G蛋白偶联血管紧张素(1-7)受体, MAS受体。这些新的成分,与ANG(1-7)一起,被作为RAS的旁路途径。在这个途径中,ACE2可直接催化ANG II产生ANG(1-7),还可通过ANG I间接产生ANG(1-7)。活化的MAS受体在许多类型的细胞中已触发血

管舒张和抗增殖的信号转导机制^[28,29].

3 肝组织中RAS成分的表达

许多研究显示在不同HF动物模型及人组织样本中可以检测到经典的RAS成分. Bataller等^[30]已证明HSCs会表达AT1受体, ANG II与细胞内钙水平、细胞收缩及增殖呈剂量依赖性. Paizis等^[31]研究表明在胆道结扎的患者肝内的ACE及AT1受体的基因表达会明显增加, 尤其是在HF活跃的地方. 然而, AT2在普通及病变肝组织中均未检测到. 除了HSCs, Kuffer细胞也表达AT1受体和ANG II, 以刺激TGF- β 1和纤连蛋白的表达^[32]. 在人体组织样本中, 通过免疫组织化学的方法证明了AT1受体在普通肝组织细胞中低表达, 而在HSCs、血管上皮和胆管内皮细胞中表达增加^[33]. 对于旁路途径ACE2/ANG(1-7)/Mas受体轴, 在大鼠的HF模型中ACE2、ANG(1-7)、Mas受体表达均有所增加^[34,35]. 在健康人体肝脏, ACE2的表达仅限于内皮细胞, 某些胆管和静脉周围的肝细胞. 而在胆管结扎模型和人肝硬化组织样本中, ACE2在肝组织中广泛表达^[36]. 另有研究观察到应用ANG II治疗的HSCs细胞中ACE2表达明显增加. ANG II的前体血管紧张素原主要来自于肝细胞. 然而, 低水平的血管紧张素原也被发现在枯否细胞和胆管上皮细胞. Bataller等^[30]研究显示, 在人体内激活的HSCs和培养激活的HSCs均会表达肾素、ACE, 并会分泌ANG II到培养基中. 众所周知, 在肝硬化, 特别是肝肾综合征患者中血浆肾素活性和醛固酮水平会升高. Vilas-Boas等^[37,38]的两项研究显示ANG(1-7)存在于晚期肝病患者的外周、内脏循环中. 他们报道与轻-中度肝病相比, 晚期肝病患者的血浆肾素活性及血管紧张素会增加. 而ANG(1-7)/ANG II比率也在轻-中度肝病患者中会增高. 内脏循环中ANG(1-7)/ANG II的比率要高于外周循环, 这也许意味着ANG(1-7)/ANG II比率在肝硬化患者的血流动力学改变中发挥重要作用. 总之, 上述发现清楚地表明激活的局部RAS在HF进展中起关键作用^[38]. 而ANG(1-7)与ANG II之间的平衡在肝脏疾病发病机制中也扮演者重要角色.

4 在HF动物模型中RAS的作用

无数的研究结果显示在动物模型中RAS对于HF进展发挥着重要的作用. 通过对普通大鼠皮下植入渗透微泵, 4 wk缓慢泵入ANG II, 会诱

导HSCs活化并且胶原沉积会轻度增加^[39]. 此外, ANG II输注会诱导氧化应激, 引起炎症细胞因子浓度的增加, 使炎症蛋白的表达上调, 如诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)^[39]. 在另一个通过胆管结扎导致胆管扩张的肝损害大鼠模型中, 用类似的方法泵入ANG II, 肝脏炎症蛋白、TNF- α 和白细胞介素(interleukins, IL)-1 β 的水平具有所增加^[21]. ANG II输注也增加肝脏TGF- β 浓度, 胶原沉积以及 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)阳性细胞和脂过氧化产物的沉积. 作者还报告说, 输注ANG II可激活c-Jun和细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulating kinase, ERK)-1/2的磷酸化, 并促进胆管增生. 在体外培养的HSCs中, 血管紧张素II会促进活性氧的产生, 细胞增殖和分泌炎症细胞因子^[21].

许多研究人员已利用基因和药理学方法阐明信号传导机制在ANG II诱导的HF中的调节作用. 通过对胆管结扎及CCl₄诱导的大鼠HF模型进行了初步研究, 显示ACE抑制剂可减少ANG II的产生, 显著延缓了HF的进展. 在两个不同的大鼠肝癌模型中, 应用ACE抑制剂-培哚普利, 可显著的抑制HF标志物, 如肝羟脯氨酸含量, 血清HF标志物, α -SMA阳性细胞和III型胶原mRNA的表达. 激活的AT1可促进肾、心的纤维化, 类似的结论在HF中也可见到, 通过药理学抑制或基因敲除AT1, 可减轻HF^[40]. 应用AT1的拮抗剂可减轻HF模型中的纤维化程度^[41]. 一项研究比较了ARBs和ACEI在胆管结扎诱导的HF模型中抑制作用, ARBs要优于ACEI^[42]. 许多研究均证实HF的动物模型中应用ARBs或ACEI类药物, 可阻止纤维化的进展. 此外, 近期一研究显示将AT1拮抗剂氯沙坦应用于动物模型仅3 d就可减少胶原沉积、肌纤维母细胞的积累以及前胶原 α 2(I)基因的表达^[43]. 在动物非酒精性脂肪肝模型中应用氯沙坦可减少被激活的HSCs数量, 并抑制TGF- β 的表达, 减轻HF^[44]. 这一结果提示ARBs有望成为治疗非酒精性脂肪肝患者HF的药物^[44]. 在对AT1 α 缺陷小鼠的实验表明, AT1是HF进展的关键. 而AT2缺陷小鼠的HF会加重, 这提示活化的AT2可能在氧化应激诱导的HF过程中有抗纤维化和/或细胞保护作用^[45]. 但尚缺乏AT2在人肝组织样本中的研究.

也有相当多的证据支持, 在HF动物模型中, ANG(1-7)具有抗HF作用^[46]. 其中一个证据是

■ 相关报道

动物实验显示血管紧张素II(angiotensin II, ANG II)可促进在HF中其重要作用的星状细胞的活化与增殖, 而ANG II 1型受体的缺乏, 以及血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂的应用都可减轻HF.

■创新盘点

本文提供了最新的关于肾素-血管紧张素系统在HF发病机制中作用的研究结论。除对肝星状细胞、Kuffer细胞有调节作用外, RAS系统同样对胆管上皮细胞产生影响, 并参与了胆管纤维化的进展。

Paizis等^[47]研究发现在胆管结扎诱导的大鼠HF模型及人丙肝后肝硬化组织样本中, ACE2广泛表达。Herath等^[34]也报道了在胆管结扎诱导的大鼠HF模型中, ACE2及ANG(1-7)呈现高表达。同样在CCl₄诱导的大鼠HF模型中, 也存在ACE2表达上调的情况^[35]。另有实验表明ANG(1-7)对HF具有潜在的保护性, 在胆管结扎诱导的大鼠HF模型中, Mas抑制剂可通过增加胶原含量及促进TGF- β 1的表达进而加速HF的发展。近期Lubel等^[46]也证实了先前的研究结论-ANG(1-7)具有抗HF作用。在动物模型中, ANG(1-7)不仅可改善组织学纤维化分期, 还可降低羟脯氨酸含量、降低胶原1A1、 α -SMA、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、CTGF、ACE和MAS的表达。此外, 培养的肝细胞会表达AT1和MAS, 当加入ANG(1-7)或MAS受体激动剂后, 会减少 α -SMA和羟脯氨酸的产生。

在对ACE2基因敲除的小鼠应用CCl₄处理或进行胆管结扎后, 其HF程度会明显加重。肝硬化患者血浆中ANG(1-7)和ANG II浓度会明显升高。然而, 丙型肝炎患者与对照组相比, ANG(1-7)的水平有所升高, 但ANG II的浓度却没有增加。上述研究结果提示我们, ANG(1-7)/Mas轴对RAS介导的肝损伤可起到调节作用, 有望成为一个治疗HF的有效靶点。

5 在肝病患者中ARBs和ACEI的应用研究

RAS抑制剂广泛用于肾衰和心衰的治疗, 众多临床研究都提示其可改善肾、心纤维化^[48]。目前有许多应用ARBs和ACEI治疗HF的研究。这些研究主要应用的是ARBs中的氯沙坦。比较早期的一个研究是Terui等^[49]应用氯沙坦治疗处于慢性丙型肝炎早期阶段的患者, 结果显示氯沙坦可降低IV型胶原沉积和TGF- β 1的表达。在一个小规模研究中, 应用氯沙坦治疗14例慢性丙型肝炎, 其HF程度得到改善^[50]。此外2个回顾性研究也证明了ACEI和ARBs对HF的治疗作用^[51,52]。其中一个研究是128例肝移植后丙肝复发的患者, 应用ACEI和ARBs治疗后, HF有所改善^[51]。另一个较大的回顾性研究, 对284例合并高血压的慢性丙型肝炎患者应用ARBs或ACEI治疗高血压时, 有了一些意外的发现^[52]。合并高血压的慢丙肝患者, 其纤维化程度较无高血压的丙肝患者要重^[52]。其中, 应用血管紧张素阻断剂治疗的高血压患者比没有接受治疗的患者纤维化程度轻^[52]。此外, 应注意肝硬化腹水的患者, 使用RAS抑制

剂, 如卡托普利降低门静脉压力的结果并不理想, 因其具有非常显著的不良副反应如肾功能损害和全身性低血压。显然, ARBs和ACEI关于改善HF的有效性是可以肯定的, 但尚需大量患者的对照试验。

一些实验数据表明, RAS抑制剂对于肝癌的治疗有帮助。已有研究发现, ACE抑制剂培哚普利在体外试验中可抑制肝癌血管生成^[53]。一个小型研究发现, 维生素K联合培哚普利可通过抑制VEGF而抑制血管生成, 从而抑制经治疗后原发性肝癌的复发^[53]。这些研究表明ACEI可通过抑制VEGF来治疗肝癌。但仍需进一步的临床研究来证实其有效性及安全性。

6 RAS触发下游信号转导机制来激活HSCs

通过RAS成分激活下游信号转导机制来调节HF尚未被充分研究。然而, 几个研究表明, 通过ANG II活化HSC、AT1受体刺激分泌TGF- β 1可加剧HF^[54]。接下来我们总结了一下已被阐明的信号转导机制。ANG II可诱导HSCs的增殖并可产生TGF- β 1。激活的HSCs可分泌ANG II, 通过激活NADPH氧化酶诱导纤维化的产生^[55]。Bataller等^[55]证明ANG II可诱导NADPH氧化酶调节亚基p47phox磷酸化, 激活NADPH氧化酶诱导ROS的产生。此外, ANG II可使AKT和MAPKs磷酸化, 增加AP-1 DNA的合成。另一个研究显示, ANG II可刺激DNA合成, 细胞迁移, 胶原 α 1(I) mRNA的表达, 并分泌TGF- β 1和炎症细胞因子^[55]。其他的研究表明ACEI和ARBs通过抑制肝脏NF- κ B的活化来发挥抗纤维化作用。ANG II可增加NF- κ B活性以及NF- κ B靶基因TNF- α 的表达^[56]。此外, ANG II可明显的增加HSC AP-1的活性和AP-1的靶基因 α 1(I)前胶原mRNA的表达^[56]。最后, ANG II可刺激HSCs产生单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)来调节肝脏炎症^[57]。通过对比ANG II的纤维化作用, 证明活化的ANG(1-7)/MAS轴具有抗纤维化作用。

7 结论

RAS对慢性肝病HF具有重要的调节作用。动物模型的研究, 显示了ARBs和ACEI具有有效的抗纤维化作用。对慢性肝病患者抗纤维化的治疗也显示出了良好的前景。此外, 某些研究显示ACEI可能对肝癌的治疗有帮助。然而, 尚需对慢性肝患者群进行大量的对照实验研究。

未来的研究应评估RAS在其他类型细胞中

的作用,如胆管上皮细胞,他也可以分泌RAS成分,有可能对以胆管纤维化为特征的慢性肝病具有抗纤维化作用。有趣的是,最近的研究表明,ANG II可通过HSCs的自分泌和旁分泌机制刺激胆管癌生长,诱导肿瘤的纤维化^[58]。这些研究结果表明,在胆汁淤积类疾病的发病机制中,胆管上皮细胞可能与HSCs及门静脉成纤维细胞相互作用。未来的研究需要评估RAS治疗慢性肝病(如PSC)HF的机制。

8 参考文献

- 1 Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 223-229 [PMID: 19396960 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283279668]
- 2 韩硬海, 李树桐主编. 临床肝脏病学. 山东: 山东科学技术出版社, 2005: 174
- 3 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
- 4 Lim YS, Kim WR. The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 733-746, vii [PMID: 18984463]
- 5 Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, Brenner DA. Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 1346-1355 [PMID: 16115040 DOI: 10.1089/ars.2005.7.1346]
- 6 Pereira RM, dos Santos RA, da Costa Dias FL, Teixeira MM, Simões e Silva AC. Renin-angiotensin system in the pathogenesis of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2579-2586 [PMID: 19496186 DOI: 10.3748/wjg.15.2579]
- 7 龚浩, 王宇, 张忠涛, 李建设, 周延忠. 血管紧张素 II 及其受体拮抗剂对肝星状细胞收缩的影响. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 695-698
- 8 Osterreicher CH, Taura K, De Minicis S, Seki E, Penz-Osterreicher M, Kodama Y, Kluwe J, Schuster M, Oudit GY, Penninger JM, Brenner DA. Angiotensin-converting-enzyme 2 inhibits liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2009; 50: 929-938 [PMID: 19650157 DOI: 10.1002/hep.23104]
- 9 Yi ET, Liu RX, Wen Y, Yin CH. Telmisartan attenuates hepatic fibrosis in bile duct-ligated rats. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33: 1518-1524 [PMID: 23103625 DOI: 10.1038/aps.2012.115]
- 10 Kato J, Koda M, Kishina M, Tokunaga S, Matono T, Sugihara T, Ueki M, Murawaki Y. Therapeutic effects of angiotensin II type 1 receptor blocker, irbesartan, on non-alcoholic steatohepatitis using FLS-ob/ob male mice. *Int J Mol Med* 2012; 30: 107-113 [PMID: 22469867 DOI: 10.3892/ijmm.2012.958]
- 11 Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology* 2008; 134: 1641-1654 [PMID: 18471544 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.002]
- 12 Acquaviva A, Vecchio D, Arezzini B, Comporti M, Gardi C. Signaling pathways involved in isoprostone-mediated fibrogenic effects in rat hepatic stellate cells. *Free Radic Biol Med* 2013; 65C: 201-207 [PMID: 23792773 DOI: 10.2741/887]
- 13 Glaser SS, Gaudio E, Miller T, Alvaro D, Alpini G. Cholangiocyte proliferation and liver fibrosis. *Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e7 [PMID: 19239726 DOI: 10.1017/S1462399409000994]
- 14 Alvaro D, Mancino MG, Glaser S, Gaudio E, Marziani M, Francis H, Alpini G. Proliferating cholangiocytes: a neuroendocrine compartment in the diseased liver. *Gastroenterology* 2007; 132: 415-431 [PMID: 17241889 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.07.023]
- 15 Olteanu D, Nagy A, Dudea M, Filip A, Muresan A, Catoi C, Mircea PA, Clichici S. Hepatic and systemic effects of rosuvastatin on an experimental model of bile duct ligation in rats. *J Physiol Pharmacol* 2012; 63: 483-496 [PMID: 23211302]
- 16 Ebrahimkhani MR, Elsharkawy AM, Mann DA. Wound healing and local neuroendocrine regulation in the injured liver. *Expert Rev Mol Med* 2008; 10: e11 [PMID: 18442446 DOI: 10.1017/S146239940800063X]
- 17 Schmitt-Graeff A, Jing R, Nitschke R, Desmoulière A, Skalli O. Synemin expression is widespread in liver fibrosis and is induced in proliferating and malignant biliary epithelial cells. *Hum Pathol* 2006; 37: 1200-1210 [PMID: 16938526]
- 18 Luo B, Tang L, Wang Z, Zhang J, Ling Y, Feng W, Sun JZ, Stockard CR, Frost AR, Chen YF, Grizzle WE, Fallon MB. Cholangiocyte endothelin 1 and transforming growth factor beta1 production in rat experimental hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology* 2005; 129: 682-695 [PMID: 16083721 DOI: 10.1016/j.gastro.2005.05.050]
- 19 Higashi K, Oda T, Kushiya T, Hyodo T, Yamada M, Suzuki S, Sakurai Y, Miura S, Kumagai H. Additive antifibrotic effects of pioglitazone and candesartan on experimental renal fibrosis in mice. *Nephrology (Carlton)* 2010; 15: 327-335 [PMID: 20470302 DOI: 10.1111/j.1440-1797.2009.01253.x]
- 20 He X, Gao X, Peng L, Wang S, Zhu Y, Ma H, Lin J, Duan DD. Atrial fibrillation induces myocardial fibrosis through angiotensin II type 1 receptor-specific Arkadia-mediated downregulation of Smad7. *Circ Res* 2011; 108: 164-175 [PMID: 21127293 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234369]
- 21 Bataller R, Gäbele E, Parsons CJ, Morris T, Yang L, Schoonhoven R, Brenner DA, Rippe RA. Systemic infusion of angiotensin II exacerbates liver fibrosis in bile duct-ligated rats. *Hepatology* 2005; 41: 1046-1055 [PMID: 15841463 DOI: 10.1002/hep.20665]
- 22 Lavoie JL, Sigmund CD. Minireview: overview of the renin-angiotensin system--an endocrine and paracrine system. *Endocrinology* 2003; 144: 2179-2183 [PMID: 12746271 DOI: 10.1210/en.2003-0150]
- 23 Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev* 2006; 86: 747-803 [PMID: 16816138 DOI: 10.1152/physrev.00036.2005]
- 24 Bader M, Ganten D. Update on tissue renin-angiotensin systems. *J Mol Med (Berl)* 2008; 86: 615-621 [PMID: 18414822 DOI: 10.1007/s00109-008-0336-0]
- 25 Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292: C82-C97 [PMID: 16870827 DOI: 10.1152/ajpcell.00287.2006]
- 26 Brown CA, Zusman RM, Haber E. Identification of an angiotensin receptor in rabbit renomedullary interstitial cells in tissue culture. Correlation with prostaglandin biosynthesis. *Circ Res* 1980; 46: 802-807 [PMID: 6247080 DOI: 10.1161/01.RES.46.6.802]

■应用要点

本文为临床抗纤维化治疗提供了一个新思路-针对RAS系统进行治疗也许会成为HF的预防和治疗的新方法。

■同行评价

本文表述清晰, 层次清楚, 重点突出, 语句顺畅, 能够反映有关研究进展。

- 27 Kramkowski K, Mogielnicki A, Buczek W. The physiological significance of the alternative pathways of angiotensin II production. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 529-539 [PMID: 17229979]
- 28 Iwai M, Horiuchi M. Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. *Hypertens Res* 2009; 32: 533-536 [PMID: 19461648]
- 29 Castro-Chaves P, Cerqueira R, Pinalhao M, Leite-Moreira AF. New pathways of the renin-angiotensin system: the role of ACE2 in cardiovascular pathophysiology and therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 485-496 [PMID: 20392165 DOI: 10.1517/14728221003709784]
- 30 Bataller R, Ginès P, Nicolás JM, Görbig MN, Garcia-Ramallo E, Gasull X, Bosch J, Arroyo V, Rodés J. Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000; 118: 1149-1156 [PMID: 10833490 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70368-4]
- 31 Paizis G, Cooper ME, Schembri JM, Tikellis C, Burrell LM, Angus PW. Up-regulation of components of the renin-angiotensin system in the bile duct-ligated rat liver. *Gastroenterology* 2002; 123: 1667-1676 [PMID: 12404241 DOI: 10.1053/gast.2002.36561]
- 32 Leung PS, Suen PM, Ip SP, Yip CK, Chen G, Lai PB. Expression and localization of AT1 receptors in hepatic Kupffer cells: its potential role in regulating a fibrogenic response. *Regul Pept* 2003; 116: 61-69 [PMID: 14599716 DOI: 10.1016/S0167-0115(03)00192-7]
- 33 Schulte S, Oidtman A, Kociok N, Demir M, Odenthal M, Drebber U, Dienes HP, Nierhoff D, Goeser T, Toex U, Steffen HM. Hepatocyte expression of angiotensin II type 1 receptor is downregulated in advanced human liver fibrosis. *Liver Int* 2009; 29: 384-391 [PMID: 19040540 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01902.x]
- 34 Herath CB, Warner FJ, Lubel JS, Dean RG, Jia Z, Lew RA, Smith AI, Burrell LM, Angus PW. Upregulation of hepatic angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and angiotensin-(1-7) levels in experimental biliary fibrosis. *J Hepatol* 2007; 47: 387-395 [PMID: 17532087 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.03.008]
- 35 Huang Q, Shi CC, Lin LY, Wang H, Yu H, Guo Q, Xie Q. [Expression and correlation of angiotensin-converting enzyme 2 in CCl4-induced rat liver fibrosis]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2013; 21: 47-52 [PMID: 23663763 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418]
- 36 Huang ML, Li X, Meng Y, Xiao B, Ma Q, Ying SS, Wu PS, Zhang ZS. Upregulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 in hepatic fibrosis by ACE inhibitors. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010; 37: e1-e6 [PMID: 19793108 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05302.x]
- 37 Vilas-Boas WW, Ribeiro-Oliveira A, Ribeiro Rda C, Vieira RL, Almeida J, Nadu AP, Simões e Silva AC, Santos RA. Effect of propranolol on the splanchnic and peripheral renin angiotensin system in cirrhotic patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6824-6830 [PMID: 19058308 DOI: 10.3748/wjg.14.6824]
- 38 Vilas-Boas WW, Ribeiro-Oliveira A, Pereira RM, Ribeiro Rda C, Almeida J, Nadu AP, Simões e Silva AC, dos Santos RA. Relationship between angiotensin-(1-7) and angiotensin II correlates with hemodynamic changes in human liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2512-2519 [PMID: 19469002 DOI: 10.3748/wjg.15.2512]
- 39 Bataller R, Gäbele E, Schoonhoven R, Morris T, Lehnert M, Yang L, Brenner DA, Rippe RA. Prolonged infusion of angiotensin II into normal rats induces stellate cell activation and proinflammatory events in liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G642-G651 [PMID: 12773299]
- 40 Seeland U, Schäffer A, Selejan S, Hohl M, Reil JC, Müller P, Rosenkranz S, Böhm M. Effects of AT1- and beta-adrenergic receptor antagonists on TGF-beta1-induced fibrosis in transgenic mice. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 851-859 [PMID: 19522835 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2009.02183.x]
- 41 El-Demerdash E, Salam OM, El-Batran SA, Abdallah HM, Shaffie NM. Inhibition of the renin-angiotensin system attenuates the development of liver fibrosis and oxidative stress in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 159-167 [PMID: 17900296 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04797.x]
- 42 Kim MY, Baik SK, Park DH, Jang YO, Suk KT, Yea CJ, Lee IY, Kim JW, Kim HS, Kwon SO, Cho MY, Ko SB, Chang SJ, Um SH, Han KH. Angiotensin receptor blockers are superior to angiotensin-converting enzyme inhibitors in the suppression of hepatic fibrosis in a bile duct-ligated rat model. *J Gastroenterol* 2008; 43: 889-896 [PMID: 19012043]
- 43 Moreno M, Gonzalo T, Kok RJ, Sancho-Bru P, van Beuge M, Swart J, Prakash J, Temming K, Fondevila C, Beljaars L, Lacombe M, van der Hoeven P, Arroyo V, Poelstra K, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Reduction of advanced liver fibrosis by short-term targeted delivery of an angiotensin receptor blocker to hepatic stellate cells in rats. *Hepatology* 2010; 51: 942-952 [PMID: 20044807 DOI: 10.1002/hep.23419]
- 44 Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Shirai Y, Yoshii J, Yanase K, Yamazaki M, Tsujimoto T, Kawaratani H, Akahane T, Aihara Y, Fukui H. Losartan, an angiotensin-II type 1 receptor blocker, attenuates the liver fibrosis development of non-alcoholic steatohepatitis in the rat. *BMC Res Notes* 2009; 2: 70 [PMID: 19416517 DOI: 10.1186/1756-0500-2-70]
- 45 Nabeshima Y, Tazuma S, Kanno K, Hyogo H, Iwai M, Horiuchi M, Chayama K. Anti-fibrogenic function of angiotensin II type 2 receptor in CCl4-induced liver fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 658-664 [PMID: 16774739 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.05.183]
- 46 Lubel JS, Herath CB, Tchongue J, Grace J, Jia Z, Spencer K, Casley D, Crowley P, Sievert W, Burrell LM, Angus PW. Angiotensin-(1-7), an alternative metabolite of the renin-angiotensin system, is up-regulated in human liver disease and has antifibrotic activity in the bile-duct-ligated rat. *Clin Sci (Lond)* 2009; 117: 375-386 [PMID: 19371232 DOI: 10.1042/CS20080647]
- 47 Paizis G, Tikellis C, Cooper ME, Schembri JM, Lew RA, Smith AI, Shaw T, Warner FJ, Zuilli A, Burrell LM, Angus PW. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2. *Gut* 2005; 54: 1790-1796 [PMID: 16166274 DOI: 10.1136/gut.2004.062398]
- 48 Perret-Guillaume C, Joly L, Jankowski P, Benetos A. Benefits of the RAS blockade: clinical evidence before the ONTARGET study. *J Hypertens Suppl* 2009; 27: S3-S7 [PMID: 19491620 DOI: 10.1097/01.hjh.0000354511.14086.f1]
- 49 Terui Y, Saito T, Watanabe H, Togashi H, Kawata

- S, Kamada Y, Sakuta S. Effect of angiotensin receptor antagonist on liver fibrosis in early stages of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: 1022 [PMID: 12297856 DOI: 10.1053/jhep.2002.32679]
- 50 Sookoian S, Fernández MA, Castaño G. Effects of six months losartan administration on liver fibrosis in chronic hepatitis C patients: a pilot study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7560-7563 [PMID: 16437678]
- 51 Rimola A, Londoño MC, Guevara G, Bruguera M, Navasa M, Forns X, García-Retortillo M, García-Valdecasas JC, Rodes J. Beneficial effect of angiotensin-blocking agents on graft fibrosis in hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 686-691 [PMID: 15371669 DOI: 10.1097/01.TP.0000128913.09774.CE]
- 52 Corey KE, Shah N, Misdraji J, Abu Dayyeh BK, Zheng H, Bhan AK, Chung RT. The effect of angiotensin-blocking agents on liver fibrosis in patients with hepatitis C. *Liver Int* 2009; 29: 748-753 [PMID: 19220742 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.01973.x]
- 53 Yoshiji H, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Yanase K, Tsujinoue H, Imazu H, Fukui H. Suppression of the renin-angiotensin system attenuates vascular endothelial growth factor-mediated tumor development and angiogenesis in murine hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2002; 20: 1227-1231 [PMID: 12012003]
- 54 Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJ. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102: 538-549 [PMID: 9691091]
- 55 Bataller R, Schwabe RF, Choi YH, Yang L, Paik YH, Lindquist J, Qian T, Schoonhoven R, Hagedorn CH, Lemasters JJ, Brenner DA. NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1383-1394 [PMID: 14597764]
- 56 Li X, Meng Y, Wu P, Zhang Z, Yang X. Angiotensin II and Aldosterone stimulating NF-kappaB and AP-1 activation in hepatic fibrosis of rat. *Regul Pept* 2007; 138: 15-25 [PMID: 16971004 DOI: 10.1016/j.regpep.2006.07.011]
- 57 Kanno K, Tazuma S, Nishioka T, Hyogo H, Chayama K. Angiotensin II participates in hepatic inflammation and fibrosis through MCP-1 expression. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 942-948 [PMID: 15906773 DOI: 10.1007/s10620-005-2669-7]
- 58 Okamoto K, Tajima H, Ohta T, Nakanuma S, Hayashi H, Nakagawara H, Onishi I, Takamura H, Ninomiya I, Kitagawa H, Fushida S, Tani T, Fujimura T, Kayahara M, Harada S, Wakayama T, Iseki S. Angiotensin II induces tumor progression and fibrosis in intrahepatic cholangiocarcinoma through an interaction with hepatic stellate cells. *Int J Oncol* 2010; 37: 1251-1259 [PMID: 20878072 DOI: 10.3892/ijo_00000776]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

细胞周期素依赖性激酶、细胞周期调控与肝纤维化

吴丹, 谷秋红, 李智伟

■背景资料

目前认为肝纤维化发生的最终共同途径均是肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)活化。HSCs活化和增殖是肝纤维化的细胞学基础。细胞周期的调控异常与HSCs过度增殖密切相关;而细胞周期进程的实现在依赖于细胞周期的内源性调控,主要是通过磷酸化和去磷酸化为基础的周期素-周期素依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)抑制途径实现的。

吴丹, 谷秋红, 李智伟, 中国医科大学附属盛京医院感染科辽宁省沈阳市 110022

吴丹, 讲师, 主治医师, 主要从事肝炎、肝硬化及其他传染性疾病的临床、教学及科研工作。

作者贡献分布: 本文综述由吴丹与谷秋红完成; 吴丹贡献较多; 李智伟负责审校。

通讯作者: 李智伟, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院感染科。lizw@sj-hospital.org

收稿日期: 2013-03-15 修回日期: 2013-06-03

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Cyclin-dependent kinases, control of cell cycle and hepatic fibrosis

Dan Wu, Qiu-Hong Gu, Zhi-Wei Li

Dan Wu, Qiu-Hong Gu, Zhi-Wei Li, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, Liaoning Province, China
Correspondence to: Zhi-Wei Li, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. lizw@sj-hospital.org

Received: 2013-03-15 Revised: 2013-06-03

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

Multiple etiologies of liver disease lead to liver fibrosis by driving the activation of hepatic stellate cells (HSCs) into a myofibroblast-like phenotype that is contractile, proliferative and fibrogenic. Liver fibrosis is associated with the proliferation of HSCs, and the cell cycle of activated HSCs is abnormal. Cyclin-dependent kinases (CDKs) play essential roles in cell proliferation. However, the molecular mechanisms responsible for the abnormal proliferation of activated HSCs during hepatic fibrogenesis remain to be defined. Here we will review recent progress in understanding the associations among CDKs, the control of cell cycle and hepatic fibrosis, with an aim to reveal the potential mechanisms of hepatic fibrosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cyclin-dependent kinases; Control of cell cycle; Hepatic fibrosis

Wu D, Gu QH, Li ZW. Cyclin-dependent kinases, control of cell cycle and hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2158-2163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2158>

摘要

肝纤维化是多种肝脏疾病的共同病理学结局。在肝纤维化过程中,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)发生活化,表型发生改变,使其具有收缩性、再生性,并能生成胶原成分。肝纤维化的发生发展与活化的HSCs的增殖情况有关;而细胞增殖情况则与细胞周期素依赖性激酶、细胞周期调控密切相关。但是,目前对与此相关的分子机制尚未明确。此综述就近年来与肝纤维化过程中细胞周期素依赖性激酶及细胞周期调控方面的研究加以总结,以揭示可能存在的引起肝纤维化的部分机制。

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

关键词: 细胞周期素依赖性激酶; 细胞周期调控; 肝纤维化

核心提示: 通过对周期素依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)的结构、生物学功能、CDK与细胞周期调控,以及CDK与肝纤维化发生、发展的关系进行总结,阐明细胞周期调控及与之相关的信号转导途径对肝星状细胞激活、增殖、转化、凋亡的复制调控途径以及潜在的生物学功能,进一步了解与肝纤维化有关的分子学机制,助于寻找抗纤维化治疗的新途径。

吴丹, 谷秋红, 李智伟. 细胞周期素依赖性激酶、细胞周期调控与肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2013; 21(22): 2158-2163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2158>

0 引言

肝纤维化的发生是各种原因导致的肝细胞损伤后肝脏内胶原活动性沉积的结果。近年来的研究表明,尽管不同病因致肝病的发病机制不同,但肝纤维化发生的最终共同途径均是肝星状细

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科; 鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院

胞(hepatic stellate cells, HSCs)活化. HSCs活化和增殖是肝纤维化的细胞学基础, 是各种病因肝纤维化发生的中心环节. 而细胞周期的调控异常与HSCs过度增殖密切相关. 细胞周期进程的实现在于细胞周期的内源性调控, 主要是通过磷酸化和去磷酸化为基础的周期素-周期素依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)抑制途径实现的. 现将CDK的结构、生物学功能及其与细胞周期调控及肝纤维化发生、发展的关系进行总结, 以助于进一步了解与肝纤维化有关的分子学机制.

1 细胞周期素依赖性激酶

真核细胞的细胞(体细胞)分裂周期(cell division cycle, CDC)是由S期(DNA合成期)、M期(有丝分裂期)以及两个间期-G₁期(DNA合成前期)和G₂期(DNA合成后期)这4个阶段组成. 细胞周期的循环运转是受一系列磷酸化/去磷酸化事件调控, 参与调控的分子成员由一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶组成催化亚单位和属于细胞周期素家族成员的调节亚单位细胞周期素组成. 由于这些激酶需要与细胞周期素结合才具有激酶活性, 因此被称为CDK^[1,2].

目前已发现在单核真核细胞生物中, 负责细胞内蛋白质磷酸化的CDK通常只有一种, 在芽殖酵母中是CDC28, 在裂殖酵母中是CDC2^[2-4]. 在多细胞真核生物中参与细胞周期的CDK有7个成员, 即CDK1-7, 他们分别调控着细胞周期中不同阶段及细胞周期的进程^[1,2,5-8]. 目前研究已证实, 7种CDK分子彼此在DNA序列上的同源性超过40%, 其蛋白产物相对分子量为 30×10^3 - 40×10^3 , 有一个催化核心, 均属丝氨酸和苏氨酸激酶^[9]. 其中: (1)CDK1是CDC基因(CDC2)编码的蛋白, 相对分子量为 34×10^3 , 是一种丝氨酸蛋白激酶, 主要与cyclinA和B结合构成细胞M期促进因子, 推动细胞进入M期; (2)CDK2的DNA全长879个碱基, 编码298个氨基酸的蛋白质, 可分别与周期素E、周期素A和周期素D结合, 分别在G₁/S期、S期和G₂期发挥作用; (3)CDK4基因位于12q13-14, 编码分子量为 33×10^3 kDa的蛋白质, CDK6基因定位于7q21-22, 编码分子量为 38×10^3 kDa的蛋白质, 二者结构及功能相似, 是G₁期运行的重要分子, 可与周期素D结合, 通过周期素D-CDK4/CDK6通路调控细胞越过G₁期限制点; (4)CDK5主要存在于脑内. CDK5蛋白由292个氨基酸组成, 相对分子量为分子量为 $33 \times$

10^3 , 与人CDC2和CDK2的同源性分别为58%和62%; (5)CDK7能与周期素H相互作用, 结合形成活性复合物, 也被称为CDK活化激酶, 他能够使细胞周期调控中的所有主要的CDK磷酸化.

2 CDK与细胞周期调控

目前认为, CDK在细胞周期调控网络中处于中心地位, 主要生物学作用是调控细胞周期的不同时期, 从G₁、S、G₂到M期, 完成循环^[10-12]. CDK激活有赖于与cyclin的结合和其分子中某些氨基酸残基的磷酸化状态. 含催化亚基的CDK需要cyclin提供调节亚基才能显示活性, 只有cyclin浓度升高达到阈值时, 才能与相应的CDK结合形成cyclin-CDK复合体, 这时CDK才能被激活; CDK分子中含有活化部位和抑制部位, 只有前者处于磷酸化而后者处于去磷酸化状态, CDK才显活性^[13]. CDK的活性还受其上游的CDK活化激酶(CDK-activating kinase, CAK)的影响. CAK正是通过使CDK分子中的活化部位的氨基酸残基磷酸化来参与调控CDK的活性的^[14].

细胞周期的不同时期, 会有不同CDK发生活化, 来调控细胞周期的运行. 活化的CDK呈现出蛋白激酶的活性, 使不同的底物蛋白磷酸化, 从而启动或调控细胞周期的主要事件. CDK激活的底物主要有视网膜神经胶质瘤蛋白、抑癌基因p107、p103等, 具有促进细胞周期时相转变、启动DNA合成、运行细胞分裂、推进细胞周期运行的重要功能^[9,11,12].

研究发现, CDK1是及其调节亚基-周期素构成的细胞M期促进因子, 推动细胞进入M期, 在细胞周期的调控中其决定性作用. CDC2是细胞中唯一能够在细胞周期由G₁期→S期和由G₂期→M期转变中的两个调控点均起作用的基因. CDK1激酶的激活是细胞分裂、增殖的信号, 有启动DNA复制和诱导细胞有丝分裂的双重作用. 有研究发现, 对于某些物种, CDK1是其生存所必需的CDK分子^[15-18].

CDK2可分别与周期素E、周期素A和周期素D结合, 分别在G₁/S期、S期和G₂期发挥作用. CDK2是启动DNA复制的关键激酶, 也是G₂期运行的必要条件^[16,19-23]. CDK4和CDK6是G₁期运行的重要分子, 可与周期素D结合, 通过周期素D-CDK4/CDK6通路调控细胞越过G₁期限制点^[24-27]. 既往研究已证实, 尽管CDK2/CDK4与CDK6不是小鼠细胞所必需的, 但他们对于某些

■研究前沿

现在已发现很多肿瘤都存在CDK表达异常. 在肿瘤中往往存在一种或多种CDK的扩增和过表达现象. 相对而言, 我们对肝纤维化过程中CDK的基因及其表达产物生物学作用的了解还比较少, 对于与HSCs增殖相关的准确机制目前还不十分明确.

■相关报道

目前CDK及细胞周期调控方面的研究大多针对于肿瘤的发生机制及治疗,肝纤维化的研究涉及到CDK及细胞调控方面的还比较少,希望本篇综述能在肝纤维化机制及治疗方面带给我们更多提示。

特殊类型的细胞还是非常重要的。例如,CDK2参与调控生殖细胞的增殖、CDK4参与调控胰岛 β 细胞和脑垂体泌乳细胞的增殖;而CDK6则与血液细胞的增殖密切相关^[26-31]。

CDK5主要存在于脑内,可与Cdc激酶有高度同源性,也可以与周期素D1、D2结合,但结合后没有激酶活性,与Cdc也没有关系,但参与神经系统发育^[32]。

CDK7与周期素H相互作用结合所形成的CDK活化激酶,能够使细胞周期调控中的所有主要的CDK-周期素底物磷酸化而被激活,能引起的某一种CDK周期底物的磷酸化,与周期素的时相起伏相平行。已有实验结果证实,细胞周期阻滞以及凋亡程度与CDK7的蛋白表达水平有一定的关系^[33,34]。

CDK的灭活,除了泛素介导的蛋白水解体系外,CDI即CDK抑制物(CDK inhibitor, CDI)也可特异性抑制CDK的活性。哺乳类动物的CDI主要包括Ink4和Kip或称Cip或Waf1。前者是一组CDK4的抑制蛋白,其成员包括P16Ink4a、P15Ink4b、P18Ink4c、P19Ink4d,可特异性地与CDK4/6结合,阻止其与cyclin再结合,抑制其激酶活性,在S期达高峰,是G₁/S限制点负调控机制的重要组成部分。后者成员包括P21Kip1、P27Kip1、P57Kip2,他们可特异性抑制几种cyclinD/CDK的蛋白激酶活性,主要调控细胞周期确保遗传物质精确地传递给下一代^[33,35,36]。

细胞要想在细胞周期过程中通过G₁/S检查点,CDK2、CDK4和CDK6必须发生活化。CDK4和CDK6与细胞周期素D结合后可以被活化,而CDK2则需要与细胞周期素E结合才能被活化。CDK4、CDK6和细胞周期素D的表达在G₁期早期就开始增加,并对G₁期晚期CDK2和周期素E的合成进行调控。Rb蛋白在G₁期可被活化的CDK持续磷酸化,并释放核转录因子E2F,这就使细胞对DNA合成的抑制作用消失,DNA合成启动,促进细胞由G₁期向S期转化^[2,11,14,18,22]。

3 肝纤维化过程中的HSCs细胞周期调控

肝纤维化是多种肝脏疾病的共同病理学结局^[37]。目前认为,肝纤维化发生的中心事件是:由损伤引起的HSCs激活并转化为肌成纤维样细胞,通过旁分泌与自分泌作用,使HSCs增殖,合成大量的细胞外基质。细胞外基质的分泌增加,降解减少,以致其在肝脏内大量沉积,最终导致肝纤维

化。Yuan等^[38]将这一过程归纳为4个连续又部分重叠的阶段:(1)炎症反应的发生和HSCs激活启动;(2)局部ECM的改变;(3)损伤部位肌成纤维细胞的迁移、聚集和增殖,随后出现血管的生成和上皮增殖;(4)损伤愈合后瘢痕的收缩。

在肝纤维化发生、发展的过程中,活化的HSCs发生了角色转换,这也是肝纤维化得以不断进展的关键步骤。活化的HSCs不再是正常肝脏中的贮脂细胞,而成为了肝脏中细胞外基质成分的主要细胞来源^[39-45]。除了在功能上的改变,在肝纤维化过程中,HSCs还出现大量增殖的情况,以致其细胞数量明显增加,这意味着其细胞周期的调控出现了异常;也可以说,在HSCs活化后,调节其细胞周期运行的相关的cyclin、CDK及CDI可能在表达及功能等方面出现了异常^[42,44-46]。

目前认为,活化的HSCs出现了不同于正常生理状态下的增殖异常活跃的状态。有研究表明,受到乙醛刺激的HSCs增殖活跃,其细胞周期素D1与CDK4的mRNA的表达都有所增加,而有丝分裂原信号调节激酶-1的特异性抑制物能够明显抑制HSCs内这两种mRNA的表达,同时HSCs的增殖被明显抑制了,说明cyclinD1与CDK4参与了HSCs的增殖,而ERK通路可能参与了对cyclinD1与CDK4 mRNA表达的调节^[47,48]。而在对小鼠肝纤维化的研究中发现,cyclinE参与调控小鼠HSCs的增殖,对小鼠肝纤维化的形成非常重要^[49]。

而在对某些具有转录因子抑制作用的药物的研究中(如curcumin)发现,这类药物可以抑制HSCs表达cyclinD1,而HSCs的增殖也被抑制,并发生凋亡^[50-52]。还有一些药物,如川芎嗪可以通过对体外HSCs内ERK/P53信号转导的调节来阻止G₀/G₁期细胞进入细胞周期的下一时相,并能诱导HSCs的凋亡^[53]。而某些CDK的抑制物则与人非肿大性肝炎或肝硬化向肝细胞癌转化有关^[54]。此外还有研究发现,多种肽类及信号转导分子,诸如核因子- κ B、转化生长因子- β 、肿瘤坏死因子- α 等都参与了对HSCs增殖的调控^[55-57]。

4 结论

我们已经知道,细胞周期的调控主要是通过CDK的一系列磷酸化和去磷酸化反应来完成的。细胞周期素能使CDK发生磷酸化,在这一过程起到正调节作用,而CKI则使CDK去磷酸化,抑制CDK的活性。因此,可以说细胞周期的内源

性调控的核心机制是CDK活性的表达与调控。*CDK*基因及其表达产物的异常改变可使细胞出现增殖过度。而目前对于因*CDK*基因及其表达产物异常的研究多数都致力于肿瘤发生、发展等研究领域, 现已发现很多肿瘤都存在*CDK*表达的异常, 在肿瘤中往往存在一种或多种*CDK*的扩增和过表达现象。相对而言, 我们对肝纤维化过程中*CDK*基因及其表达产物生物学作用的了解还比较少, 对于与HSCs增殖相关的准确机制目前还不十分明确, 相关的研究也比较少, 而HSCs活化、增殖或凋亡是肝纤维化发生、发展或恢复的决定因素, 进一步阐明细胞周期调控及与之相关的信号转导途径对HSCs激活、增殖、转化、凋亡的调控以及潜在的生物学功能将有助于寻找抗纤维化治疗的新途径。

5 参考文献

- 1 Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 153-166 [PMID: 19238148 DOI: 10.1038/nrc2602]
- 2 Merrick KA, Fisher RP. A virtual cycle: theory and experiment converge on the exit from mitosis. *F1000 Biol Rep* 2010; 2: 33 [PMID: 20948801 DOI: 10.3410/B2-33]
- 3 Hartwell LH, Culotti J, Pringle JR, Reid BJ. Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science* 1974; 183: 46-51 [PMID: 4587263 DOI: 10.1126/science.183.4120.46]
- 4 Nurse P, Thuriaux P, Nasmyth K. Genetic control of the cell division cycle in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Gen Genet* 1976; 146: 167-178 [PMID: 958201 DOI: 10.1007/BF00268085]
- 5 Nurse P. Cyclin dependent kinases and cell cycle control (nobel lecture). *ChemBiochem* 2002; 3: 596-603 [PMID: 12324993 DOI: 10.1002/1439-7633(20020703)3:7<596::AID-CBIC596>3.0.CO;2-U]
- 6 Murray AW. Recycling the cell cycle: cyclins revisited. *Cell* 2004; 116: 221-234 [PMID: 14744433 DOI: 10.1016/S0092-8647(03)01080-8]
- 7 Gong L, Jiang C, Zhang B, Hu H, Wang W, Liu X. Adenovirus-mediated expression of both antisense ornithine decarboxylase and s-adenosylmethionine decarboxylase induces G1 arrest in HT-29 cells. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39: 730-736 [PMID: 17129409]
- 8 Larochelle S, Merrick KA, Terret ME, Wohlbold L, Barboza NM, Zhang C, Shokat KM, Jallepalli PV, Fisher RP. Requirements for Cdk7 in the assembly of Cdk1/cyclin B and activation of Cdk2 revealed by chemical genetics in human cells. *Mol Cell* 2007; 25: 839-850 [PMID: 17386261 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.02.003]
- 9 Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1602: 73-87 [PMID: 11960696 DOI: 10.1016/S0304-419X(02)00037-9]
- 10 Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411: 342-348 [PMID: 11357141 DOI: 10.1038/35077213]
- 11 Wohlbold L, Fisher RP. Behind the wheel and under the hood: functions of cyclin-dependent kinases in response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 1018-1024 [PMID: 19464967 DOI: 10.1016/j.dnarep.2009.04.009]
- 12 Yata K, Esashi F. Dual role of CDKs in DNA repair: to be, or not to be. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 6-18 [PMID: 18832049 DOI: 10.1016/j.dnarep.2008.09.002]
- 13 Buratowski S. Progression through the RNA polymerase II CTD cycle. *Mol Cell* 2009; 36: 541-546 [PMID: 19941815 DOI: 10.1016/j.molcel.2009.10.019]
- 14 Larochelle S, Amat R, Glover-Cutter K, Sansó M, Zhang C, Allen JJ, Shokat KM, Bentley DL, Fisher RP. Cyclin-dependent kinase control of the initiation-to-elongation switch of RNA polymerase II. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19: 1108-1115 [PMID: 23064645 DOI: 10.1038/nsmb.2399]
- 15 Santamaria D, Barrière C, Cerqueira A, Hunt S, Tardy C, Newton K, Cáceres JF, Dubus P, Malumbres M, Barbacid M. Cdk1 is sufficient to drive the mammalian cell cycle. *Nature* 2007; 448: 811-815 [PMID: 17700700 DOI: 10.1038/nature06046]
- 16 Merrick KA, Fisher RP. Putting one step before the other: distinct activation pathways for Cdk1 and Cdk2 bring order to the mammalian cell cycle. *Cell Cycle* 2010; 9: 706-714 [PMID: 20139727 DOI: 10.4161/cc.9.4.10732]
- 17 Katsuno Y, Suzuki A, Sugimura K, Okumura K, Zineldeen DH, Shimada M, Niida H, Mizuno T, Hanaoka F, Nakanishi M. Cyclin A-Cdk1 regulates the origin firing program in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 3184-3189 [PMID: 19221029 DOI: 10.1073/pnas.0809350106]
- 18 Merrick KA, Fisher RP. Why minimal is not optimal: driving the mammalian cell cycle--and drug discovery--with a physiologic CDK control network. *Cell Cycle* 2012; 11: 2600-2605 [PMID: 22732498 DOI: 10.4161/cc.20758]
- 19 Jablonska B, Aguirre A, Vandenbosch R, Belachew S, Berthet C, Kaldis P, Gallo V. Cdk2 is critical for proliferation and self-renewal of neural progenitor cells in the adult subventricular zone. *J Cell Biol* 2007; 179: 1231-1245 [PMID: 18086919 DOI: 10.1083/jcb.200702031]
- 20 Li X, Kim JW, Grønborg M, Urlaub H, Lane MD, Tang QQ. Role of cdk2 in the sequential phosphorylation/activation of C/EBPβ during adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 11597-11602 [PMID: 17601773 DOI: 10.1073/pnas.0703771104]
- 21 Neganova I, Zhang X, Atkinson S, Lako M. Expression and functional analysis of G1 to S regulatory components reveals an important role for CDK2 in cell cycle regulation in human embryonic stem cells. *Oncogene* 2009; 28: 20-30 [PMID: 18806832 DOI: 10.1038/ONC.2008.358.Epub]
- 22 Chung JH, Bunz F. Cdk2 is required for p53-independent G2/M checkpoint control. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000863 [PMID: 20195506 DOI: 10.1371/journal.pgen.1000863]
- 23 Wohlbold L, Merrick KA, De S, Amat R, Kim JH, Larochelle S, Allen JJ, Zhang C, Shokat KM, Petrini JH, Fisher RP. Chemical genetics reveals a specific requirement for Cdk2 activity in the DNA damage response and identifies Nbs1 as a Cdk2 substrate in human cells. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002935 [PMID: 22927831 DOI: 10.1371/journal.pgen.1002935]
- 24 Day PJ, Cleasby A, Tickle IJ, O'Reilly M, Coyle JE,

■创新盘点

CDK及其抑制剂的作用与肿瘤细胞增殖有密切关系, 但他与肝纤维化关系的研究较少。

■同行评价

CDK及其抑制剂的作用与肿瘤细胞增殖有密切关系, CDK抑制剂是近年研究热点, 但他与肝纤维化的研究较少, 本文对此进行探讨有一定的创新性和研究价值。

- 25 Takaki T, Echalié A, Brown NR, Hunt T, Endicott JA, Noble ME. The structure of CDK4/cyclin D3 has implications for models of CDK activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4171-4176 [PMID: 19237555 DOI: 10.1073/pnas.0809674106]
- 26 Bockstaele L, Bisteau X, Paternot S, Roger PP. Differential regulation of cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and CDK6, evidence that CDK4 might not be activated by CDK7, and design of a CDK6 activating mutation. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 4188-4200 [PMID: 19487459 DOI: 10.1128/MCB.01823-08]
- 27 Merrick KA, Wohlbold L, Zhang C, Allen JJ, Horiuchi D, Huskey NE, Goga A, Shokat KM, Fisher RP. Switching Cdk2 on or off with small molecules to reveal requirements in human cell proliferation. *Mol Cell* 2011; 42: 624-636 [PMID: 21658603 DOI: 10.1016/j.molcel.2011.03.031]
- 28 Berthet C, Aleem E, Coppola V, Tessarollo L, Kaldis P. Cdk2 knockout mice are viable. *Curr Biol* 2003; 13: 1775-1785 [PMID: 14561402 DOI: 10.1016/j.cub.2003.09.024]
- 29 Malumbres M, Sotillo R, Santamaría D, Galán J, Cerezo A, Ortega S, Dubus P, Barbacid M. Mammalian cells cycle without the D-type cyclin-dependent kinases Cdk4 and Cdk6. *Cell* 2004; 118: 493-504 [PMID: 15315761 DOI: 10.1016/j.cell.2004.08.002]
- 30 Martín J, Hunt SL, Dubus P, Sotillo R, Néhémé-Pelluard F, Magnuson MA, Parlow AF, Malumbres M, Ortega S, Barbacid M. Genetic rescue of Cdk4 null mice restores pancreatic beta-cell proliferation but not homeostatic cell number. *Oncogene* 2003; 22: 5261-5269 [PMID: 12917627 DOI: 10.1038/sj.onc.1206506]
- 31 Ortega S, Prieto I, Odajima J, Martín A, Dubus P, Sotillo R, Barbero JL, Malumbres M, Barbacid M. Cyclin-dependent kinase 2 is essential for meiosis but not for mitotic cell division in mice. *Nat Genet* 2003; 35: 25-31 [PMID: 12923533 DOI: 10.1038/ng1232]
- 32 Connell-Crowley L, Le Gall M, Vo DJ, Giniger E. The cyclin-dependent kinase Cdk5 controls multiple aspects of axon patterning in vivo. *Curr Biol* 2000; 10: 599-602 [PMID: 10837225 DOI: 10.1016/S0960-9822(00)00487-5]
- 33 Ali S, Heathcote DA, Kroll SH, Jogalekar AS, Scheiper B, Patel H, Brackow J, Siwicki A, Fuchter MJ, Periyasamy M, Tolhurst RS, Kanneganti SK, Snyder JP, Liotta DC, Aboagye EO, Barrett AG, Coombes RC. The development of a selective cyclin-dependent kinase inhibitor that shows anti-tumor activity. *Cancer Res* 2009; 69: 6208-6215 [PMID: 19638587 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0301]
- 34 Ganuza M, Santamaría D. Cdk7: open questions beyond the prevailing model. *Cell Cycle* 2012; 11: 3519-3520 [PMID: 22935708 DOI: 10.4161/cc.21888]
- 35 Ganuza M, Sáiz-Ladera C, Cañamero M, Gómez G, Schneider R, Blasco MA, Pisano D, Paramio JM, Santamaría D, Barbacid M. Genetic inactivation of Cdk7 leads to cell cycle arrest and induces premature aging due to adult stem cell exhaustion. *EMBO J* 2012; 31: 2498-2510 [PMID: 22505032 DOI: 10.1038/emboj.2012.94]
- 36 Ray A, James MK, Larochelle S, Fisher RP, Blain SW. p27Kip1 inhibits cyclin D-cyclin-dependent kinase 4 by two independent modes. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 986-999 [PMID: 19075005 DOI: 10.1128/MCB.00898-08]
- 37 Lotersztajn S, Julien B, Teixeira-Clerc F, Grenard P, Mallat A. Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 605-628 [PMID: 15471534 DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095906]
- 38 Yuan LP, Chen FH, Ling L, Bo H, Chen ZW, Li F, Zhong MM, Xia LJ. Protective effects of total flavonoids of *Bidens bipinnata* L. against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 1393-1402 [PMID: 18812033 DOI: 10.1211/jpp.60.10.0016]
- 39 Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res* 1998; 292: 447-452 [PMID: 9582401 DOI: 10.1007/s004410051073]
- 40 Gonzalo T, Beljaars L, van de Bovenkamp M, Temming K, van Loenen AM, Reker-Smit C, Meijer DK, Lacombe M, Opdam F, Kéri G, Orfi L, Poelstra K, Kok RJ. Local inhibition of liver fibrosis by specific delivery of a platelet-derived growth factor kinase inhibitor to hepatic stellate cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 856-865 [PMID: 17369283 DOI: 10.1124/jpet.106.114496]
- 41 Xu XB, He ZP, Liang ZQ, Leng XS. [Obstruction of TGF-beta1 signal transduction by anti-Smad4 gene can therapy experimental liver fibrosis in the rat]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 263-266 [PMID: 15161498]
- 42 Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S79-S84 [PMID: 17567474 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04659.x]
- 43 Friedman SL. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004; 1: 98-105 [PMID: 16265071 DOI: 10.1038/ncgasthep0055]
- 44 Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S73-S78 [PMID: 17567473 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04658.x]
- 45 Rockey DC. Antifibrotic therapy in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 95-107 [PMID: 15704042 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00445-8]
- 46 Saile B, Matthes N, Knittel T, Ramadori G. Transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha inhibit both apoptosis and proliferation of activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999; 30: 196-202 [PMID: 10385656 DOI: 10/S0270913999003262]
- 47 Jiang MD, Zheng SM, Xu H, Zeng WZ, Zhang Y, Sun HP, Wang YX, Qin JP, Wu XL. An experimental study of extracellular signal-regulated kinase and its interventional treatments in hepatic fibrosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 51-57 [PMID: 18234639]
- 48 Ussar S, Voss T. MEK1 and MEK2, different regulators of the G1/S transition. *J Biol Chem* 2004; 279: 43861-43869 [PMID: 15284233 DOI: 10.1074/jbc.M406240200]
- 49 Nevzorova YA, Bangen JM, Hu W, Haas U,

- Weiskirchen R, Gassler N, Huss S, Tacke F, Sicinski P, Trautwein C, Liedtke C. Cyclin E1 controls proliferation of hepatic stellate cells and is essential for liver fibrogenesis in mice. *Hepatology* 2012; 56: 1140-1149 [PMID: 22454377 DOI: 10.1002/hep.25736]
- 50 Cheng Y, Ping J, Xu LM. Effects of curcumin on peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression and nuclear translocation/redistribution in culture-activated rat hepatic stellate cells. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 794-801 [PMID: 17531121]
- 51 Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl4-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 399-409 [PMID: 18006644 DOI: 10.1124/mol.107.039818]
- 52 Yao QY, Xu BL, Wang JY, Liu HC, Zhang SC, Tu CT. Inhibition by curcumin of multiple sites of the transforming growth factor-beta1 signalling pathway ameliorates the progression of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12: 156 [PMID: 22978413 DOI: 10.1186/1472-6882-12-156]
- 53 Zhang F, Kong DS, Zhang ZL, Lei N, Zhu XJ, Zhang XP, Chen L, Lu Y, Zheng SZ. Tetramethylpyrazine induces G0/G1 cell cycle arrest and stimulates mitochondrial-mediated and caspase-dependent apoptosis through modulating ERK/p53 signaling in hepatic stellate cells in vitro. *Apoptosis* 2013; 18: 135-149 [PMID: 23247439 DOI: 10.1007/s10495-012-0791-5]
- 54 Wang L, Sun L, Huang J, Jiang M. Cyclin-dependent kinase inhibitor 3 (CDKN3) novel cell cycle computational network between human non-malignancy associated hepatitis/cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) transformation. *Cell Prolif* 2011; 44: 291-299 [PMID: 21535270 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2011.00752.x]
- 55 Elsharkawy AM, Wright MC, Hay RT, Arthur MJ, Hughes T, Bahr MJ, Degitz K, Mann DA. Persistent activation of nuclear factor-kappaB in cultured rat hepatic stellate cells involves the induction of potentially novel Rel-like factors and prolonged changes in the expression of IkappaB family proteins. *Hepatology* 1999; 30: 761-769 [PMID: 10462383 DOI: 10/S0270913999004139]
- 56 Pinzani M, Marra F, Carloni V. Signal transduction in hepatic stellate cells. *Liver* 1998; 18: 2-13 [PMID: 9548261 DOI: 10.111/.1600-0676.1998.tb00120.x]
- 57 Lang A, Schoonhoven R, Tuvia S, Brenner DA, Rippe RA. Nuclear factor kappaB in proliferation, activation, and apoptosis in rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2000; 33: 49-58 [PMID: 10905586 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80159-2]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

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

尾加压素在肝硬化中的研究进展

梁冬雨, 侯彦强, 姜晓丽, 叶长根

■背景资料

肝硬化是一种常见的慢性肝病, 发病率和病死率很高。尾加压素(urotensin II, U II)是新发现的一种血管活性肽, 研究发现U II在肝硬化患者血浆和组织中表达升高, 提示U II可能与肝硬化的发病有关。

梁冬雨, 侯彦强, 姜晓丽, 叶长根, 上海市交通大学附属第一人民医院松江分院, 上海市松江区中心医院检验科中心实验室 上海市 201600

梁冬雨, 初级技师, 主要从事肝病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由梁冬雨、姜晓丽及叶长根完成; 侯彦强负责审校。

通讯作者: 侯彦强, 副主任检验师, 201600, 上海市松江区中山中路748号, 上海市松江区中心医院检验科中心实验室。

houyanqiang@aliyun.com

电话: 021-67720472

收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-06-27

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Progress in understanding role of urotensin II in hepatic cirrhosis

Dong-Yu Liang, Yan-Qiang Hou, Xiao-Li Lou, Chang-Gen Ye

Dong-Yu Liang, Yan-Qiang Hou, Xiao-Li Lou, Chang-Gen Ye, Department of Central Laboratory, Songjiang Branch of Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201600, China

Correspondence to: Yan-Qiang Hou, Associate Chief Technician, Department of Central Laboratory, Songjiang Branch of Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, 748 Zhongshanzhong Road, Songjiang District, Shanghai 201600, China. houyanqiang@aliyun.com

Received: 2013-04-07 Revised: 2013-06-27

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

Urotensin II (U II) is a potent vasoactive substance that can result in vasoactive response through interaction with its specific orphan G-protein-coupled receptor GPR-14. In addition to the role of vasoactivity, U II can promote mitosis and fibrosis. The vascular role of U II is to some degree both species- and disease-specific. Studies have found that plasma levels of U II are elevated in patients with cirrhosis, but the relationship between plasma levels of U II and the development of chronic liver disease and portal hypertension has yet to be fully elucidated. This review focuses on the potential relevance of U II as vasoactive substance in chronic liver disease and the site where U II is overproduced.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Urotensin II; Hepatic cirrhosis; Vasoactive effect

Liang DY, Hou YQ, Lou XL, Ye CG. Progress in understanding role of urotensin II in hepatic cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2164-2168
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2164.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2164>

摘要

尾加压素(urotensin II, U II)是一种有效的血管活性物质。U II通过与其特异性孤儿G-蛋白耦联受体GPR-14结合发挥血管活性作用。U II的血管活性作用具有种族特异性和疾病特异性。随着对U II进一步深入的研究, 发现其除具有血管活性作用以外, 还具有促有丝分裂和促纤维化作用。有研究发现U II在肝硬化患者血浆中表达升高, 但其在慢性肝病以及门脉高压发生发展中的作用机制尚不明确。这篇综述主要介绍了U II作为血管活性物质在慢性肝病发生发展中的潜在作用以及探讨肝脏中表达U II的位点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 尾加压素; 肝硬化; 血管活性效应

核心提示: 尾加压素在肝硬化患者中表达升高, 提示其在慢性肝病发生发展中的潜在作用, 其受体拮抗剂的研究可能为肝硬化门脉高压症的治疗提供新的思路。

梁冬雨, 侯彦强, 姜晓丽, 叶长根. 尾加压素在肝硬化中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2164-2168 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2164>

0 引言

肝硬化是一种常见的慢性肝病, 发病率和病死率很高, 目前认为其形成的机制主要是肝内阻力增加和门脉血流量增多, 但多种因素均可能参与其发病过程^[1,2]。近年来, 不断发现新的因素参与了肝硬化的发生、发展。尾加压素(urotensin II, U II)是一种有效的血管活性肽, U II通过

■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科; 庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

与其特异性孤儿G-蛋白耦联受体GPR-14结合发挥血管活性作用^[3,4]。最近研究发现U II在肝硬化患者血浆和组织中表达升高,提示U II可能与肝硬化的发生、发展及预后密切相关^[5]。U II拮抗剂的研究也许可揭示肝硬化的发病机制,为肝硬化的治疗提供新的方向。

1 U II 与生长抑素

上消化道出血是肝硬化门脉高压症最严重的并发症之一,严重威胁着肝硬化患者的生命。生长抑素(somatostatin, SST)及其类似物奥曲肽(ocetreotide, OCT)是目前治疗门脉高压引起上消化道出血的有效药物,然而SST和OCT降低门静脉压力控制静脉曲张出血的机制尚未明确,众多研究认为, SST和OCT通过抑制内脏血管收缩来降低门静脉压力^[6,7]。人尾加压素 II(human urotensin II, hU II)是一种由11个氨基酸组成的多肽,一级结构为Glu-Thr-Pro-Asp-cyclo[Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys]-Val,是迄今所知体内最强的缩血管肽,其C末端高度保守的六肽结构Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys与SST和OCT非常相似^[8]。U II通过与其特异性受体GPR14结合发挥血管活性作用,研究发现SST和OCT在高浓度条件下也能竞争结合GPR14受体,抑制U II的缩血管活性^[9]。Pomier-Layrargues等^[10]通过尾静脉注射OCT,发现其能对抗U II引起的大鼠主动脉环的收缩,而且这种现象在肝硬化老鼠模型中更为明显,这一发现说明OCT可以通过与U II受体结合抑制U II引起的缩血管作用。另外, U II除具有缩血管活性外,对大鼠肠系膜血管、人腹部阻力血管具有舒张作用^[11,12]。肝硬化门脉高压发生上消化道出血的原因之一是由于肠系膜血管舒张,导致内脏血流增加^[13]。因此,我们推测奥曲肽治疗上消化道出血的机制可能是通过竞争结合U II受体,从而拮抗U II的血管活性作用。U II的发现及研究为肝硬化门脉高压的发生发展机制提供新的视野。U II拮抗剂在治疗肝硬化方面的研究目前已成为国内外的热点,希望在不久的将来, U II受体拮抗剂将为这种疾病的治疗提供新的选择。

2 U II 及其受体在肝脏中的表达

在以往的研究中,由于所选患者不同,方法和敏感度不同, U II及其受体在肝脏中的表达量有所差异,但总的来说,在正常情况下, U II及其受体在肝脏中呈低水平表达^[14-18]。Charles等^[19]通过同

时收集已麻醉羊的动脉和静脉样本来检测U II在肝脏中的分布,结果发现肝静脉中U II表达量明显高于同时收集的颈动脉标本,这说明U II可能来源于肝脏,当然也不排除U II可能来自内脏循环或门静脉系统。为了进一步证明U II的来源, Heller等^[20]检测了30例经颈静脉肝内门体支架分流术肝硬化患者肝静脉和门静脉中U II的表达水平,结果发现U II在肝静脉中表达显著高于门静脉,由此推断U II是通过肝脏释放出来的。有学者研究发现在胆管结扎的肝硬化大鼠肝脏中U II/UT的表达显著高于正常大鼠,免疫组织化学染色显示U II、UT在肝脏表达定位于动静脉及胆管的内皮细胞、库普弗细胞,而这些细胞在肝硬化门脉高压中发挥重要作用, U II/UT可能通过调节这些细胞而在肝硬化门脉高压中发挥重要作用^[21,22]。

3 U II /UT在慢性肝病患者中的表达

血浆U II水平在多种疾病中表达升高,如高血压、糖尿病、肾衰竭等^[23-29],但目前对于U II是否通过改变体内平衡参与这些疾病的发生发展及临床意义目前尚不完全清楚。肝硬化患者的主要特征之一是存在着明显的高动力循环状态,表现为“血管阻力下降,血压降低,心输出量增加,局部脏器血流增加及明显的门体分流”。Heller等^[20]发现肝硬化门脉高压患者肝脏U II/UT基因水平较正常人群明显升高,血U II/UT水平也显著升高,然而由于患者群体多样化及其他潜在的影响因素如肝肾综合征,血流动力不稳定等,这一发现无法说明U II在肝硬化发病中的作用。为了进一步揭示U II/UT系统在肝硬化门脉高压发生发展中的作用, Kemp等^[30]收集了80例经过血流动力学评估的肝硬化患者及年龄相匹配的健康人的血清, ELISA法检测了U II的表达水平,结果显示肝硬化患者血清中U II表达水平较健康人显著升高,且按Child-Pugh分级评分系统评估后,发现U II水平与疾病的严重程度呈正相关^[31]。但Kemp等^[32]的研究发现U II在股静脉中的表达显著高于肝静脉,这与Heller的研究结果不一致,这种差异的可能原因是两组患者的疾病程度不同, Kemp等^[30]组收集的60%是Child-Pugh分级A级的患者,而Heller组收集的60%是Child-Pugh分级C级的患者,这也间接说明了只有在疾病严重的情况下,肝脏才过表达U II。

U II及其受体在人体多种器官组织中均有表达^[33-37],但通常认为循环中的U II多来自于心

■研究前沿

肝硬化及其并发症严重危害着人类健康,目前对其发病机制尚不完全明确,多种因素可能参与其发病过程,近年来,不断发现新的因素参与肝硬化的发病,因此揭示肝硬化的发病机制及寻找新的治疗肝硬化的药物是目前亟待解决的问题。

■相关报道

目前认为肝硬化的发生机制是肝内阻力增加和门脉血流量增多。U II具有强血管活性, Leifeld等在2010年发现U II在肝硬化患者血浆和组织中表达升高。

■创新盘点

本文分别通过U II与生长抑素、U II及其受体在肝脏中的表达、U II/UT在慢性肝病患者中的表达和U II受体拮抗剂的全面阐述,完整、系统、较全面的介绍了U II在肝硬化中的研究。

脏组织和肾组织^[38]。肝硬化门脉高压的高动力循环对全身器官的功能改变有显著影响,其中对心脏有很大的影响,而血浆U II水平在缺血及非缺血性心衰中均表达升高^[39,40]。另外,肝硬化尤其是晚期肝硬化患者常由于肾素血管紧张素醛固酮的激活,引起钠水储留,发生功能性肾衰竭。在动物体内的研究表明,U II可以作为一种渗透调节剂引起钠水储留,应用U II受体拮抗剂urantide可引起大鼠肾小球滤过率增加,尿量增加以及尿钠排出增多,这些结果与Heller和Kemp的研究结果一致,肝硬化伴腹水患者血浆U II水平明显高于无腹水的肝硬化患者^[41]。当然,肝硬化患者U II升高的机制也可能是由于肝清除减少所致,但Kemp通过在一个比较恒定的浓度范围内比较外周血和肝内血U II的表达发现肝硬化时U II的升高与肝清除无关。总之,目前研究提示肝硬化门脉高压时U II/UT表达升高,但升高的具体机制尚不明确。

4 U II受体拮抗剂

U II受体拮抗剂的研究对理解U II/UT在各种疾病中的生理作用及揭示其治疗潜力方面非常重要,如血管紧张素II受体拮抗剂和内皮素受体拮抗剂能用于治疗门脉高压。U II受体拮抗剂的研究可能为治疗该病提供新的选择。

Behm等^[42]在2002年首次发现生长激素释放抑制因子(somatostatin, SST)拮抗剂SB-710411, 10 μmol/L的SB-710411能显著地抑制hU II引起的离体大鼠主动脉的收缩反应。随后Patacchini等^[43]又发现一种新的hU II受体拮抗剂-Urantide,在离体的大鼠主动脉研究中发现,该拮抗剂可以与hU II受体高选择性结合,极低水平即可产生激动效能,其拮抗hU II的作用比其他任何化学物的50-100倍。Palosuran(ACT-058362)是新合成的一种非肽类U II受体拮抗剂,具有高度特异性,Clozel等^[44]发现其能以剂量依赖的方式拮抗U II引起的兔主动脉环收缩,且与hU II受体的结合能力明显高于兔U II受体。

U II受体拮抗剂在疾病中的治疗作用已成为国内外研究的热点,叶向或等^[45]在糖尿病大鼠动物模型中,通过比较对照组和Palosuran治疗组视网膜周细胞和基底膜的改变发现,Palosuran能有效抑制糖尿病的早期微血管病变。Clozel等^[46]发现U II受体拮抗剂的应用可以提高糖尿病小鼠生存率,增加胰岛素分泌,延缓血糖、糖化血红蛋白和血脂的升高,增加肾血流,延缓蛋白尿

和肾损伤的发展。在对肾脏的研究中发现,Palosuran可以选择性舒张肾脏血管,在增加缺血后肾血流量的同时不合并任何全身血管舒张效应,静脉注射Palosuran治疗缺血性急性肾衰竭大鼠,可明显减轻肾小球和肾小管的结构损伤及功能障碍^[47,48]。在对肺损伤的研究中,赖荣德等^[49]发现U II受体拮抗剂能减轻肺泡细胞损害,增多肺泡合成表面活性物质,减轻肺泡萎陷,改善透氧血流值,提高氧合功能,表现出对肺保护作用。

关于UT拮抗剂在肝硬化门脉高压症中的作用目前也有一些研究,Trebicka等^[50]在肝硬化大鼠模型中研究发现,UT拮抗剂SB-710411预防给药可以改善肝硬化大鼠的高动力循环状态,降低肝硬化大鼠的肝纤维化评分、肝组织中羟脯氨酸含量、血肝纤维化指标,下调大鼠肝脏I型胶原、III型胶原以及TIMP-1 mRNA的表达,改善肝脏纤维化。Trebecka等^[50]发现Palosuran可以增加胆管结扎肝硬化大鼠的内脏血管阻力,降低门脉血流,而降低门脉压力。此外Palosuran可以增加胆管结扎肝硬化大鼠的肾小球率过滤,促进水钠排泄。上述研究提示UT拮抗剂可以降低肝硬化门脉高压患者的门脉压力,预防肝纤维化,促进水钠排泄,在肝硬化门脉高压症方面具有潜在的治疗作用。

5 结论

U II及其受体UT在肝硬化门脉中的表达升高,且与疾病的严重程度和并发症如腹水密切相关,但U II/UT系统在肝硬化门脉症发生发展中的具体作用机制尚不清楚。U II受体拮抗剂的应用可以改善门脉高压的血流动力学紊乱,预防肝纤维化,提示U II受体拮抗剂可能成为防治肝硬化门脉高压的重要工具,进一步研究U II在肝硬化门脉高压中的作用,可为肝硬化门脉高压症的治疗提供新的思路。

6 参考文献

- 1 Hernandez-Gea V, Toffanin S, Friedman SL, Llovet JM. Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2013; 144: 512-527 [PMID: 23313965 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.01.002]
- 2 Seo YS, Shah VH. The role of gut-liver axis in the pathogenesis of liver cirrhosis and portal hypertension. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 337-346 [PMID: 23323248 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.4.337]
- 3 Romanova EV, Sasaki K, Alexeeva V, Vilim FS, Jing J, Richmond TA, Weiss KR, Sweedler JV. Urotensin II in invertebrates: from structure to function in *Aplysia californica*. *PLoS One* 2012; 7: e48764 [PMID: 22811111 DOI: 10.1371/journal.pone.0048764]

■应用要点

U II是一种有效的血管活性肽,该文章阐述了U II可能与肝硬化的发生、发展及预后密切相关。U II拮抗剂的研究也许可揭示肝硬化的发病机制,为肝硬化的治疗提供新的方向。

- 23144960 DOI: 10.1371/journal.pone.0048764]
- 4 Gao S, Oh YB, Park BM, Park WH, Kim SH. Urotensin II protects ischemic reperfusion injury of hearts through ROS and antioxidant pathway. *Peptides* 2012; 36: 199-205 [PMID: 22609449 DOI: 10.1016/j.peptides.2012.05.004]
- 5 Newby DE, Jalan R. UROTENSIN II: BETTER THAN SOMATOSTATIN FOR PORTAL HYPERTENSION? *Hepatology* 2000; 31: 1201-1202 [PMID: 10796899]
- 6 Carreras C, Kulkarni HR, Baum RP. Rare metastases detected by (68)Ga-somatostatin receptor PET/CT in patients with neuroendocrine tumors. *Recent Results Cancer Res* 2013; 194: 379-384 [PMID: 22918770 DOI: 10.1007/978-3-642-27994-2_20]
- 7 Koren I, Riskin A, Barthlen W, Gillis D. Hepatitis in an infant treated with octreotide for congenital hyperinsulinism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013; 26: 183-185 [PMID: 23327817 DOI: 10.1515/jpem-2012-0372]
- 8 Kemp W, Roberts S, Krum H. Urotensin II: a vascular mediator in health and disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2005; 3: 159-168 [PMID: 15853635]
- 9 Nothacker HP, Wang Z, McNeill AM, Saito Y, Merten S, O'Dowd B, Duckles SP, Civelli O. Identification of the natural ligand of an orphan G-protein-coupled receptor involved in the regulation of vasoconstriction. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 383-385 [PMID: 10559967]
- 10 Pomier-Layrargues G, Paquin SC, Hassoun Z, Lafortune M, Tran A. Octreotide in hepatorenal syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Hepatology* 2003; 38: 238-243 [PMID: 12830007 DOI: 10.1053/jhep.2003.50276]
- 11 Bottrill FE, Douglas SA, Hiley CR, White R. Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1865-1870 [PMID: 10952676]
- 12 Gardiner SM, March JE, Kemp PA, Davenport AP, Bennett T. Depressor and regionally-selective vasodilator effects of human and rat urotensin II in conscious rats. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1625-1629 [PMID: 11309232]
- 13 Trebicka J, Hennenberg M, Eckhardt A, Biecker E, Sauerbruch T, Heller J. Urotensin II receptor antagonist Palosuran lowers portal pressure and improves renal perfusion in cirrhotic rats. *Hepatology* 2006; 44: 202A
- 14 Chai SB, Li XM, Pang YZ, Qi YF, Tang CS. Increased plasma levels of endothelin-1 and urotensin-II in patients with coronary heart disease. *Heart Vessels* 2010; 25: 138-143 [PMID: 20339975 DOI: 10.1007/s00380-009-1178-6]
- 15 Romanelli RG, Laffi G, Vizzutti F, Del Bene R, Marra F, Caini P, Guerra CT, La Villa G, Barletta G. Elevated plasma levels of urotensin II do not correlate with systemic haemodynamics in patients with cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 314-318 [PMID: 20943446 DOI: 10.1016/j.dld.2010.08.012]
- 16 Liao Y, Du JB, Tang CS, Jin HF. [Change and significance in the levels of plasma urotensin II and catestatin in children with postural orthostatic tachycardia syndrome]. *Beijing Daxue Xuebao* 2011; 43: 436-439 [PMID: 21681278]
- 17 Pawar R, Kemp W, Roberts S, Krum H, Yandle T, Hardikar W. Urotensin II levels are an important marker for the severity of portal hypertension in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 88-92 [PMID: 21694541 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3182153900]
- 18 Hursitoglu M, Tukek T, Cikrikcioglu MA, Kara O, Kazancioglu R, Ozkan O, Cakirca M, Akdogan F, Gundogan E, Aydin S, Beycan I, Gursu M, Dogan S, Ereke A. Urotensin II levels in patients with chronic kidney disease and kidney transplants. *Ups J Med Sci* 2012; 117: 22-27 [PMID: 22098077 DOI: 10.3109/03009734.2011.626541]
- 19 Charles CJ, Rademaker MT, Richards AM, Yandle TG. Urotensin II: evidence for cardiac, hepatic and renal production. *Peptides* 2005; 26: 2211-2214 [PMID: 16269352]
- 20 Heller J, Schepke M, Neef M, Woitas R, Rabe C, Sauerbruch T. Increased urotensin II plasma levels in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol* 2002; 37: 767-772 [PMID: 12445417 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00295-7]
- 21 Liu D, Chen J, Wang J, Zhang Z, Ma X, Jia J, Wang Y. Increased expression of urotensin II and GPR14 in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Int J Mol Med* 2010; 25: 845-851 [PMID: 20428787 DOI: 10.3892/ijmm.00000413]
- 22 Leifeld L, Clemens C, Heller J, Trebicka J, Sauerbruch T, Spengler U. Expression of urotensin II and its receptor in human liver cirrhosis and fulminant hepatic failure. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1458-1464 [PMID: 19582578 DOI: 10.1007/s10620-009-0875-4]
- 23 Okumus S, Igci YZ, Taskin T, Oztuzcu S, Gurler B, Eslik Z, Gogebakan B, Coskun E, Erbagci I, Demiryurek S, Cengiz B, Demiryurek AT. Association between Thr21Met and Ser89Asn polymorphisms of the urotensin-II (UTS2) gene, diabetes mellitus, and diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2012; 37: 921-929 [PMID: 22587369 DOI: 10.3109/02713683.2012.688181]
- 24 Jani PP, Narayan H, Ng LL. The differential extraction and immunoluminometric assay of Urotensin II and Urotensin-related peptide in heart failure. *Peptides* 2013; 40: 72-76 [PMID: 23270674 DOI: 10.1016/j.peptides.2012.12.014]
- 25 Tran L, Kompa AR, Wang BH, Krum H. Evaluation of the effects of urotensin II and soluble epoxide hydrolase inhibitor on skin microvessel tone in healthy controls and heart failure patients. *Cardiovasc Ther* 2012; 30: 295-300 [PMID: 21884016 DOI: 10.1111/j.1755-5922.2011.00282.x]
- 26 Mori N, Hirose T, Nakayama T, Ito O, Kanazawa M, Imai Y, Kohzaki M, Takahashi K, Totsune K. Increased expression of urotensin II-related peptide and its receptor in kidney with hypertension or renal failure. *Peptides* 2009; 30: 400-408 [PMID: 18955095 DOI: 10.1016/j.peptides.2008.09.021]
- 27 Mosenkis A, Kallem RR, Danoff TM, Aiyar N, Bazeley J, Townsend RR. Renal impairment, hypertension and plasma urotensin II. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 609-614 [PMID: 20621933 DOI: 10.1093/ndt/gfq416]
- 28 Barrette PO, Schwertani AG. A closer look at the role of urotensin II in the metabolic syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3: 165 [PMID: 23293629 DOI: 10.3389/fendo.2012.00165]
- 29 Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE. Plasma urotensin in human systolic heart failure. *Circulation* 2002; 106: 2877-2880 [PMID: 12460864]
- 30 Kemp W, Krum H, Colman J, Bailey M, Richards

■名词解释

尾加压素: 一种血管活性肽, 具有强缩血管活性, 但在特定组织, 特定情况下如大鼠肠系膜血管、人腹部阻力血管中具有舒张作用。

■同行评价

本文对U II与生长抑素的可能作用, U II及其受体在实验动物及肝硬化患者中的表达水平变化, 以及受体拮抗剂的作用进行综述, 对肝硬化发病机制的认识及可能的治疗作用提供了新的思路。

- SR. Serum urotensin II elevation in chronic liver disease-relationship to severity of cirrhosis and portal hypertension. *J Gastro Hepatol* 2005; 20(Suppl 1): A86
- 31 Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973; 60: 646-649 [PMID: 4541913]
- 32 Kemp W, Krum H, Colman J, Yandle T, Richards M, Roberts S. Urotensin II is a relevant vasoactive mediator of cirrhotic portal hypertension in humans. *Hepatology* 2006; 44: 202A
- 33 Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Loudon CS, Foley JJ, Sauermeier CF, Coatney RW, Ao Z, Disa J, Holmes SD, Stadel JM, Martin JD, Liu WS, Glover GI, Wilson S, McNulty DE, Ellis CE, Elshourbagy NA, Shabon U, Trill JJ, Hay DW, Ohlstein EH, Bergsma DJ, Douglas SA. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* 1999; 401: 282-286 [PMID: 10499587]
- 34 Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. *Lancet* 2002; 359: 1990-1997 [PMID: 12076554]
- 35 Dschietzig T, Bartsch C, Pregla R, Zurbrugg HR, Armbruster FP, Richter C, Laule M, Romeyke E, Neubert C, Voelter W, Baumann G, Stangl K. Plasma levels and cardiovascular gene expression of urotensin-II in human heart failure. *Regul Pept* 2002; 110: 33-38 [PMID: 12468107]
- 36 Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)* 2003; 104: 1-5 [PMID: 12519081]
- 37 Liu Q, Pong SS, Zeng Z, Zhang Q, Howard AD, Williams DL, Davidoff M, Wang R, Austin CP, McDonald TP, Bai C, George SR, Evans JF, Caskey CT. Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 174-178 [PMID: 10581185]
- 38 Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 884-901 [PMID: 16783414 DOI: 10.1038/sj.bjp.0706800]
- 39 Leonard AD, Thompson JP, Hutchinson EL, Young SP, McDonald J, Swanevelde J, Lambert DG. Urotensin II receptor expression in human right atrium and aorta: effects of ischaemic heart disease. *Br J Anaesth* 2009; 102: 477-484 [PMID: 19258379 DOI: 10.1093/bja/aep011]
- 40 Russell FD, Meyers D, Galbraith AJ, Bett N, Toth I, Kearns P, Molenaar P. Elevated plasma levels of human urotensin-II immunoreactivity in congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H1576-H1581 [PMID: 12791592]
- 41 Douglas SA, Dhanak D, Johns DG. From 'gills to pills': urotensin-II as a regulator of mammalian cardiorenal function. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 76-85 [PMID: 15102493]
- 42 Behm DJ, Herold CL, Ohlstein EH, Knight SD, Dhanak D, Douglas SA. Pharmacological characterization of SB-710411 (Cpa-c[D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Cpa-amide), a novel peptidic urotensin-II receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 449-458 [PMID: 12359626]
- 43 Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Grieco P, Novellino E, Rovero P, Maggi CA. Urantide: an ultrapotent urotensin II antagonist peptide in the rat aorta. *Br J Pharmacol* 2003; 140: 1155-1158 [PMID: 14645137 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705555]
- 44 Clozel M, Binkert C, Birker-Robaczewska M, Boukhadra C, Ding SS, Fischli W, Hess P, Mathys B, Morrison K, Müller C, Müller C, Nayler O, Qiu C, Rey M, Scherz MW, Velker J, Weller T, Xi JF, Ziltener P. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin System. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 204-212 [PMID: 15146030 DOI: 10.1124/jpet.104.068320]
- 45 叶向或, 盛耀华, 邱长斌, 王于蓝, 丁爽爽. Urotensin •II受体拮抗剂对DR微血管病变的影响. *眼科研究* 2006; 24: 160-164
- 46 Clozel M, Hess P, Qiu C, Ding SS, Rey M. The urotensin-II receptor antagonist palosuran improves pancreatic and renal function in diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1115-1121 [PMID: 16267137 DOI: 10.1124/jpet.105.094821]
- 47 Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Satoh F, Ito S, Kimura Y, Sasano H, Murakami O. Role of urotensin II in patients on dialysis. *Lancet* 2001; 358: 810-811 [PMID: 11564491]
- 48 Cosenzi A. Non peptidic urotensin II antagonists: perspectives for a new class of drugs. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008; 6: 80-91 [PMID: 18473773]
- 49 赖荣德, 梁子敬. 急性肺损伤大鼠血浆及支气管肺泡灌洗液中尾加压素 II 的变化及意义. *中国危重病急救医学* 2006; 18: 501-502
- 50 Trebicka J, Leifeld L, Hennenberg M, Biecker E, Eckhardt A, Fischer N, Pröbsting AS, Clemens C, Lammert F, Sauerbruch T, Heller J. Hemodynamic effects of urotensin II and its specific receptor antagonist palosuran in cirrhotic rats. *Hepatology* 2008; 47: 1264-1276 [PMID: 18318439 DOI: 10.1002/hep.22170]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



T细胞免疫球蛋白黏蛋白3与消化系统炎症疾病的关系

余婧, 谢勇

余婧, 谢勇, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化系统疾病研究所, 江西省消化病研究重点实验室 江西省南昌市 330006

余婧, 主要从事Tim-3信号通路在小鼠实验性结肠炎中作用及机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960144

作者贡献分布: 本文综述由余婧完成; 谢勇负责审校。

通讯作者: 谢勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省消化系统疾病研究所, 江西省消化病研究重点实验室. xieyong_med@163.com

电话: 0791-888692507 传真: 0791-888692507

收稿日期: 2013-03-06 修回日期: 2013-03-29

接受日期: 2013-06-05 在线出版日期: 2013-08-08

Role of Tim-3 in pathogenesis of inflammatory diseases of the digestive system

Jing Yu, Yong Xie

Jing Yu, Yong Xie, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960144

Correspondence to: Yong Xie, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. xieyong_med@163.com

Received: 2013-03-06 Revised: 2013-03-29

Accepted: 2013-06-05 Published online: 2013-08-08

Abstract

T cell immunoglobulin mucin domain-containing molecules (Tim)-3 is a type I cell membrane glycoprotein that is expressed on the surface of cells involved in innate and adaptive immunity. As the first discovered member of Tim family, Tim-3 participates in T cell-induced immune responses. By interacting with its ligands galectin-9 or Ptd-Ser, Tim-3 induces cell apoptosis and clearance of apoptotic cells in autoimmune disorders, allergic diseases and virus infection-associated diseases. Tim-3 can act as a negative regulator of Th1/Th17 immune responses. Current research has shown that Tim-3 is involved in the pathogenesis of inflammatory diseases of the digestive system. Here

we will review the progress in understanding the role of Tim-3 in the pathogenesis of inflammatory diseases of the digestive system.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Tim-3; Galectin-9; Immune; Inflammation; Digestive system diseases

Yu J, Xie Y. Role of Tim-3 in pathogenesis of inflammatory diseases of the digestive system. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2169-2175 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2169.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2169>

摘要

T细胞免疫球蛋白黏蛋白(T cell immunoglobulin mucin domain containing molecules, Tim)-3是一种I型细胞表面糖蛋白, 表达于多种固有及适应性免疫应答细胞表面。Tim-3作为Tim家族中参与T细胞免疫应答的首位成员, 他通过与配体半乳糖凝集素(galectin-9, Gal-9)及磷脂酰丝氨酸(PtdSer)相互作用, 介导细胞凋亡及清除凋亡细胞, 负性调控Th1/Th17细胞免疫应答, 参与自身免疫性疾病、过敏性疾病、病毒感染相关性等多种疾病。目前研究表明Tim-3与消化系统炎症疾病密切相关, 本文将就相关文献报道进行综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3; 半乳糖凝集素-9; 免疫; 炎症; 消化系统疾病

核心提示: Tim-3负性调控Th1/Th17细胞免疫应答, Tim-3与配体gal-9结合介导细胞凋亡, 两者及其相关调控因子表达异常参与消化系统疾病的发生发展。

余婧, 谢勇. T细胞免疫球蛋白黏蛋白3与消化系统炎症疾病的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(22): 2169-2175 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2169.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2169>

0 引言

T细胞免疫球蛋白黏蛋白家族(T cell immuno-

■背景资料

早期研究认为Tim-3特异性表达于Th1细胞表面, 他可作为区分Th1和Th2细胞的表面标志物, 并参与Th免疫调控。近年来研究显示Tim-3在多种类型细胞表面均有表达, Tim-3与配体结合可调控免疫反应的多个环节, 并诱导细胞凋亡及清除凋亡细胞。

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院; 秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■ 研发前沿

Tim-3信号通路异常参与消化系统疾病的发生发展,激活或阻断此通路可改善或治愈相关疾病,何种因素或机制导致Tim-3信号通路异常,目前尚不清楚,这是当前乃至今后的研究热点.

globulin mucin domain containing molecules, Tim)最初于2001年由McIntire等^[1]在鼠的气道高反应调控位点区(Tapr)被发现,该家族包含8个成员,定位于鼠染色体11B1.1上,在人类染色体上已鉴定表达的Tim家族成员是Tim-1、Tim-3和Tim-4,定位于染色体5q33.2. Tim家族与T细胞免疫应答密切相关, T细胞免疫球蛋白黏蛋白(T cell immunoglobulin mucin domain containing molecules, Tim)-3作为Tim家族中的重要一员,大量研究显示Tim-3参与以T细胞应答异常为主的多种疾病. 目前研究表明Tim-3与消化系统炎症疾病密切相关,包括肝炎病毒及幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、炎症性肠病、食物过敏所致肠道炎症浸润等,现将Tim-3与他们的关系综述如下.

1 Tim-3的生物学性能及配体

人Tim-3分子由301个氨基酸组成,其基因长约23 kb^[2],与鼠Tim-3具有63%的同源性,表达在终末分化的CD4⁺Th1, CD8⁺Tc1细胞及Th17表面^[3-5]. 此外, Tim-3也表达在人固有免疫细胞上,如树突状细胞^[6]、自然杀伤细胞^[7]、单核巨噬细胞表面^[8]. Tim-3是一种I型细胞表面糖蛋白,他由信号肽、胞外免疫球蛋白结构域、黏蛋白结构域、跨膜结构域及胞质尾区组成^[2]. 其免疫球蛋白晶体结构分析显示,该结构域的4个保守半胱氨酸之间形成的2个独特袋状结构,为Tim-3与其配体结合及发挥效应提供了作用位点^[9]. 现已明确Tim-3负性调控Th1免疫应答,他通过与配体半乳糖凝集素(galectin-9, Gal-9)相互作用介导细胞凋亡,参与自身免疫性疾病^[10]、过敏性疾病^[11]、病毒感染相关性等多种疾病^[12]. 而在固有免疫应答中, Tim-3可与Toll样受体(toll-like receptor, TLR)协同作用启动固有免疫应答,通过刺激巨噬细胞活化参与自身免疫性^[13]及感染性疾病^[14]. Tim-3在固有及适应性免疫应答中发挥不同作用的现象,是与树突状细胞(dendritic cells, DC)和Th1细胞表面Tim-3胞内段去酪氨酸磷酸化形式不同相关^[6].

Gal-9作为Tim-3的天然配体^[15],他是一种大小约36 kDa的S型凝集素,属于半乳糖凝集素家族中的一员,1997年首次从霍奇金淋巴瘤中克隆出来^[16],广泛分布在肝脏、小肠、脾脏、心脏、胸腺、骨骼肌等处^[17],表达于多种类型细胞表面. Th1细胞通过分泌干扰素(interferon- γ , IFN- γ)上调Gal-9的表达^[18],后者与Tim-3相互作

用介导抑制性信号,促进钙内流,选择性诱导Th1细胞凋亡^[15,18,19]. 此外, Gal-9可促进T细胞分化成调节性T(regulatory T cells, Treg)细胞,抑制其分化成Th17细胞^[20],同时可与Tim-3相互作用诱导Th17细胞凋亡^[21]. DeKruyff等^[22]发现Tim-3与其另一个配体磷脂酰丝氨酸(PtdSer)之间具有高达50%的亲合力,两者相互作用可介导凋亡细胞吞噬,维持内环境稳定,参与自身免疫调节及免疫耐受诱导^[23].

2 Tim-3与消化系统炎症疾病

2.1 Tim-3与肝脏疾病

2.1.1 Tim-3与病毒感染相关性肝病: 病毒持续感染以适应性免疫应答受损为特征,尤以CD8⁺T细胞功能受损明显^[24],而有效的病毒特异性CD8⁺T细胞应答在病毒清除中起重要作用^[25].

Wu等^[26]研究发现,慢性乙肝病毒(chronic hepatitis B, CHB)感染患者外周血CD4⁺和CD8⁺T细胞表面高表达Tim-3,其水平与传统肝脏损伤标志物丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT), 门冬氨酸转氨酶(aspartate transferase, AST), 总胆红素(total bilirubin, TB)和国际标准化比率(International Normalized Ratio, INR)呈正相关,经有效抗病毒治疗Tim-3表达下调,提示Tim-3过表达参与持续乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染, Tim-3可作为评估肝脏损伤程度的一个有效指标. Tim-3⁺CD8⁺T细胞数目与转录因子T-bet mRNA及细胞因子IFN- γ 水平呈负相关,与病毒载量无关,故研究者推测Tim-3通过下调Th1/Tc1细胞应答,负性调控宿主免疫系统,最终导致HBV持续感染. 此外,有研究显示自然杀伤(natural killer, NK)细胞表面上调的Tim-3可与Gal-9相互作用,抑制NK细胞的免疫活性,导致HBV持续感染^[27]. Wu等^[28]进一步研究发现,封闭Tim-3信号通路可修复部分分泌、增殖功能受损的Tim-3⁺CD8⁺T细胞,提示Tim-3信号通路负性调控病毒特异性CD8⁺T细胞介导的免疫应答,推测细胞功能修复与否受细胞本身损伤程度及抑制分子如PD-1、CTLA-4和CD244等影响,具体机制尚不清楚. 此外,急性乙肝病毒(acute hepatitis B, AHB)感染患者外周血CD8⁺T细胞表面Tim-3呈一过性上调,其表达水平与肝损伤标志物、转录因子及细胞因子水平无明显相关^[26],提示Tim-3在AHB和CHB感染致病中发挥效应不同,导致了HBV感染结局的多样性. 与CHB感染类似, Tim-3在丙型肝炎病毒(hepatitis C virus,

HCV)特异性CD8⁺ T细胞表面呈高表达^[29,30], 慢性HCV感染患者肝内PD-1⁺Tim-3⁺CD8⁺ T细胞占肝总CD8⁺ T细胞比例远高于正常人群^[29], 而大部分Tim-3在缓解晚期才降至正常水平^[30], 提示PD-1⁺Tim-3⁺CD8⁺ T细胞可作为慢性HCV感染的一种主要肝内细胞显型^[30], 同时Tim-3表达水平可作为感染转归的一个预测指标. 虽然封闭PD-1/Tim-3均可改善HCV特异性CD8⁺ T细胞的增殖功能^[29-31], 但只有封闭Tim-3才能杀死HCV感染肝细胞^[30], 提示Tim-3和PD-1在T细胞功能衰竭介导的不同阶段发挥作用. Zhang等^[32]研究推测, Tim-3/Gal-9与PD-1和细胞因子信号传导抑制因子-1(suppressor of cytokine signaling-1, SOCS-1)相互作用, 限制STAT-1磷酸化, 负性调控TLR介导的白介素(interleukin, IL)-12分泌, 使固有免疫应答失调, 进而诱导适应性Th1/Tc1功能失调, 最终导致HCV持续感染. 此外, Mengshol等^[33]研究显示, HCV感染患者肝枯否细胞表面高表达Gal-9, Gal-9可通过活化caspase8途径诱导HCV特异性CD8⁺ T细胞凋亡.

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)与HBV及HCV感染密切相关^[34]. Li等^[35]采用流式细胞术检测150例临床确诊HCC患者的癌及癌旁组织发现, Tim-3主要表达在肿瘤浸润T细胞表面, Gal-9主要在HBV相关HCC的枯否细胞表面呈高表达, Tim-3/Gal-9相互作用可介导HBV相关HCC的T细胞衰竭. HBV阳性HCC患者Tim-3⁺ T细胞在T细胞中所占比例远高于HBV阴性HCC患者, 提示Tim-3表达水平在一定程度上与肿瘤微环境相关. 此外, Tim-3⁺ T细胞数与肿瘤大小呈正相关, 与患者生存期呈负相关, 提示Tim-3⁺细胞数可作为判断HCC患者生存预后的一个指标.

此外, Li等^[36]对789例中国汉族人口Tim-3基因启动子区-1541C/T, -1516G/T, -882C/T, -574G/T及外显子3区进行基因分型发现, -1516G/T位点与HBV易感性及HBV相关HCC特性(肿瘤分级、淋巴细胞转移)相关. 另一项相关性分析显示-1516基因型GT/TT可能参与HCC的发展及转归^[37].

总之, Tim-3在病毒感染相关肝病的发展、转归中发挥重要作用. 虽然大量研究已证明, Tim-3负性调控Th免疫应答, 但病毒感染相关肝病中高表达Tim-3的功能衰竭CD8⁺ T细胞是否发生凋亡, 发生凋亡又跟何种因素相关, 目前尚不清楚, 仍有待于进一步研究.

2.1.2 Tim-3与自身免疫性肝炎: 自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种慢性进行性肝脏炎症性疾病. 他主要由CD4⁺ T细胞通过识别自身抗原介导免疫应答. AIH与Treg功能缺陷及CD4⁺ T细胞低应答相关^[38,39]. Liberal等^[39]研究发现, AIH患者外周血Tim-3⁺CD4⁺ T细胞和Gal-9⁺ Treg细胞较健康人群少, 疾病复发组Tim-3⁺细胞数较缓解组少, 提示Tim-3⁺与Gal-9⁺细胞数与AIH相关. Tim-3⁺ T细胞较Tim-3⁻ T细胞而言, 前者对Treg细胞的负性调控作用更易感, 尤其是CD127-Treg细胞, 表明Tim-3参与CD4⁺ T细胞与Treg细胞介导的免疫调节. 而用siRNA封闭Treg细胞表面Gal-9可使Treg细胞对CD4⁺CD25⁻ T细胞的抑制能力显著下调, 推测Gal-9低表达可能是Treg功能受损的一个机制. 据此推断, AIH中CD4⁺CD25⁻ T效应细胞表面Tim-3与Treg细胞表面Gal-9可能是通过降低免疫易感性和损伤Treg细胞功能, 参与免疫调节受损.

2.1.3 Tim-3与原发性胆汁性肝硬变及硬化性胆管炎: 原发性胆汁性肝硬变(primary biliary cirrhosis, PBC)是一类以T细胞介导为主的慢性肝脏损害性疾病^[40]. Lv等^[41]建立小鼠肝损伤模型发现大量肝细胞凋亡, 大块肝组织出血坏死, CD4⁺ T细胞数目多, 且Tim-3表达上调. 用抗Tim-3单克隆抗体封闭Tim-3信号通路可加重肝脏损伤的病理学程度, 伴Tim-3⁺CD4⁺ T细胞数目显著增多, 提示Tim-3信号通路参与慢性肝损伤. 而用Gal-9预处理可显著改善肝脏病理学特征, 伴CD4⁺ T细胞数目及炎症因子分泌减少, 推测Tim-3与Gal-9结合可诱导CD4⁺ T细胞凋亡, 从而减少肝脏炎症因子浸润, 改善肝脏受损程度.

2.1.4 Tim-3与肝移植: 肝移植是治疗终末期肝病的一种有效治疗手段, 缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)可致约10%的早期肝移植失败, 而Toll样受体4(toll-like receptor4, TLR4)信号是诱发肝IRI的关键因素^[42]. Uchida等^[43]研究显示Tim-3/Gal-9信号通路可通过减少IFN- γ 的分泌来抑制TLR4表达, 负性调控肝IRI. Tim-3/TLR4信号互为调节决定肝IRI的严重程度, 故调节Tim-3/Gal-9信号通路有望提高肝移植成功率.

2.2 Tim-3与H. pylori感染相关胃疾病 H. pylori是与慢性胃炎、胃溃疡、胃癌发病密切相关的病原微生物. Hu等^[44]建立H. pylori感染Balb/c小鼠模型后发现, H. pylori感染组Tim-3 mRNA水平显著上调, 其表达与胃黏膜内Th1细胞因子

■相关报道

大量研究证实, Tim-3负性调控Th1/Th17细胞免疫应答, Tim-3表达失调参与自身免疫性疾病、过敏性疾病、病毒及细菌感染相关疾病等多种疾病.

■创新盘点

本文较系统体现了Tim-3在消化系统疾病发生发展中的表现及功能,指出Tim-3与TLR4信号通路相关。

IFN- γ 和IL-12水平呈显著正相关,而根除后小鼠脾脏Tim-3 mRNA的表达显著下降;体外实验通过*H. pylori*活菌与Balb/c小鼠原代淋巴细胞共培养发现,实验组Tim-3⁺ T细胞所占比例远高于对照组,提示*H. pylori*感染可诱导Th1优势免疫反应,而Tim-3的表达可反映Th1免疫反应,因此可以通过调控Tim-3信号来防治*H. pylori*相关性疾病。Xie等^[45-47]进一步用Tim-3单抗阻断Tim-3信号通路发现, Tim-3阻断对*H. pylori*疫苗接种小鼠和*H. pylori*感染小鼠免疫反应调控最终导致的结局不同,前者在加剧炎症反应的同时,有利于*H. pylori*的清除,后者加剧炎症反应,却不能清除*H. pylori*感染,同时还发现Tim-3阻断可上调TLR4、髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)的表达和核因子- κ B p65(nuclear factor- κ B, NF- κ B p65)活化,降低CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg的数量,增强了Th1免疫反应,抑制了Th2免疫反应,这可能是他增强*H. pylori*疫苗的免疫保护作用的机制,但并不影响*H. pylori*自然感染小鼠胃黏膜内*H. pylori*定植密度,以上研究证实Tim-3信号通路可通过调控TLR信号通路、Treg和Th免疫反应来影响*H. pylori*疫苗的免疫保护和*H. pylori*感染的免疫致病作用。

2.3 Tim-3与肠道炎症性疾病

2.3.1 Tim-3与炎症性肠病:炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),目前其病因和确切的发病机制并不明确,一般认为是环境、遗传、免疫等因素共同作用于遗传易感个体,产生过度免疫反应,最终导致持续性肠道炎症。Morimoto等^[48]研究发现, CD患者Th细胞表面Tim-3表达失调,推测改变Th细胞表面Tim-3的表达可减轻IBD所致的炎症浸润。Li等^[49]用重组Tim-3胞外蛋白封闭Tim-3预处理小鼠实验性结肠炎模型,发现结肠炎症程度加重, Tim-3⁺CD4⁺ T细胞数量增多, Treg细胞数量减少,促炎因子IFN- γ 、IL-17、IL-23水平增高, IL-4水平下降,提示Tim-3信号封闭加重结肠炎症可能与Treg细胞相关,且Tim-3封闭启动Th1/Th17优势免疫应答。同时,淋巴细胞表面CD80/CD86和胞内CTLA-4表达下调,推测Tim-3信号封闭介导的Th1优势免疫应答通过下调CD80和CTLA-4的表达,活化Th1细胞功能,进而抑制Treg细胞功能,这些结果表明Tim-3可影响效应T细胞分化,负性调控IBD的发展。虽然大量

研究表明Tim-3信号通路封闭可减少Gal-9/Tim-3介导的Th1细胞凋亡,但是此研究并未发现这一现象,具体原因尚不清楚。钟玫君^[50]用Tim-3单抗预处理小鼠实验性结肠炎模型,证实了Li等的研究结果,但与上述研究结果不同的是,小鼠结肠炎症程度减轻。进一步检测发现肠黏膜中MyD88、NF- κ B p65蛋白表达下降,而TLRs信号通路的负性调控因子单免疫球蛋白IL-1受体相关分子(single immunoglobulin IL-1R-related molecule, SIGIRR)蛋白表达上升。结合前人研究, Tim-3信号通路在固有应答中可激活免疫应答,推测该研究中Tim-3抗体通过增强对固有免疫应答TLRs/NF- κ B信号通路的负性调控,抑制TLRs/NF- κ B信号通路激活,从而减轻肠道炎症程度。

2.3.2 Tim-3与食物过敏所致肠道炎症浸润:食物过敏在全世界范围内有高达2%-8%的发生率^[51]。Chen等^[52]研究显示,食物过敏患者腹泻次数增多,以肠道肥大细胞、嗜酸性粒细胞大量浸润,抗原特异性CD4⁺ T细胞大量增殖, CD4⁺IL-4⁺ T细胞数目显著增多为特征,且肠上皮细胞Galec-tin-9表达上调。体外研究发现,用RNA干扰技术敲除髓系未成熟树突状细胞的Tim-3基因,可消除Gal-9诱导的促髓系树突状细胞成熟的效应,显著减少Tim-4的分泌,推测Gal-9通过与Tim-3相互作用活化肠道树突状细胞,诱导Tim-4分泌,介导Th2优势免疫应答,最终导致肠道长期处于高敏状态。

3 结论

近年来随着对Tim-3基因研究的深入,已经发现Tim-3与众多疾病相关,如自身免疫性疾病、过敏性疾病、炎症性疾病、病毒感染相关疾病、肿瘤等,用Tim-3抗体或融合蛋白封闭Tim-3,在一定程度上可改善或加重疾病程度,提示Tim-3有望用于相关疾病的治疗,但是其具体的分子机制目前尚不清楚。是何种因素导致Tim-3在不同疾病中的表达水平及功能不同?如多发性硬化患者脑脊液及外周血中T淋巴细胞低表达Tim-3,病毒感染特异性CD8⁺ T细胞高表达Tim-3。Tim-3/Gal-9信通路在调控疾病的过程中是否与其他负性调控因子如PD-1、CTLA-4相关,两者又是如何发挥效应的;表达于固有免疫细胞表面的Tim-3是如何协调固有及适应性免疫应答反应的,这些问题都有待今后进一步研究。

4 参考文献

- 1 McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuchroo VK, Barsh GS, Freeman GJ, Umetsu DT, DeKruyff RH. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. *Nat Immunol* 2001; 2: 1109-1116 [PMID: 11725301 DOI: 10.1038/ni739]
- 2 Chae SC, Song JH, Pounsambath P, Yuan HY, Lee JH, Kim JJ, Lee YC, Chung HT. Molecular variations in Th1-specific cell surface gene Tim-3. *Exp Mol Med* 2004; 36: 274-278 [PMID: 15272240 DOI: 10.1038/emm.2004.37]
- 3 Khademi M, Illés Z, Gielen AW, Marta M, Takazawa N, Baecher-Allan C, Brundin L, Hannerz J, Martin C, Harris RA, Hafler DA, Kuchroo VK, Olsson T, Piehl F, Wallström E. T Cell Ig- and mucin-domain-containing molecule-3 (TIM-3) and TIM-1 molecules are differentially expressed on human Th1 and Th2 cells and in cerebrospinal fluid-derived mononuclear cells in multiple sclerosis. *J Immunol* 2004; 172: 7169-7176 [PMID: 15153541]
- 4 Nakae S, Iwakura Y, Suto H, Galli SJ. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 1258-1268 [PMID: 17307864 DOI: 10.1189/jlb.1006610]
- 5 Jones RB, Ndhlovu LC, Barbour JD, Sheth PM, Jha AR, Long BR, Wong JC, Satkunarajah M, Schweneker M, Chapman JM, Gyenes G, Vali B, Hyrcza MD, Yue FY, Kovacs C, Sassi A, Loutfy M, Halpenny R, Persad D, Spotts G, Hecht FM, Chun TW, McCune JM, Kaul R, Rini JM, Nixon DF, Ostrowski MA. Tim-3 expression defines a novel population of dysfunctional T cells with highly elevated frequencies in progressive HIV-1 infection. *J Exp Med* 2008; 205: 2763-2779 [PMID: 19001139 DOI: 10.1084/jem.20081398]
- 6 Anderson AC, Anderson DE, Bregoli L, Hastings WD, Kassam N, Lei C, Chandwaskar R, Karman J, Su EW, Hirashima M, Bruce JN, Kane LP, Kuchroo VK, Hafler DA. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cells. *Science* 2007; 318: 1141-1143 [PMID: 18006747 DOI: 10.1126/science.1148536]
- 7 Hou N, Zhao D, Liu Y, Gao L, Liang X, Liu X, Gai X, Zhang X, Zhu F, Ni M, Zhang Y, Sun W, Ma C. Increased expression of T cell immunoglobulin- and mucin domain-containing molecule-3 on natural killer cells in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012; 222: 67-73 [PMID: 22387059 DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.02.009]
- 8 Zhang Y, Ma CJ, Wang JM, Ji XJ, Wu XY, Moorman JP, Yao ZQ. Tim-3 regulates pro- and anti-inflammatory cytokine expression in human CD14⁺ monocytes. *J Leukoc Biol* 2012; 91: 189-196 [PMID: 21844165 DOI: 10.1189/jlb.1010591]
- 9 Cao E, Zang X, Ramagopal UA, Mukhopadhyaya A, Fedorov A, Fedorov E, Zencheck WD, Lary JW, Cole JL, Deng H, Xiao H, Diloranzo TP, Allison JP, Nathenson SG, Almo SC. T cell immunoglobulin mucin-3 crystal structure reveals a galectin-9-independent ligand-binding surface. *Immunity* 2007; 26: 311-321 [PMID: 17363302 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.01.016]
- 10 Lee J, Oh JM, Hwang JW, Ahn JK, Bae EK, Won J, Koh EM, Cha HS. Expression of human TIM-3 and its correlation with disease activity in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2011; 40: 334-340 [PMID: 21446887 DOI: 10.3109/03009742.2010.547871]
- 11 Kearley J, McMillan SJ, Lloyd CM. Th2-driven, allergen-induced airway inflammation is reduced after treatment with anti-Tim-3 antibody in vivo. *J Exp Med* 2007; 204: 1289-1294 [PMID: 17517968 DOI: 10.1084/jem.20062093]
- 12 Sharma S, Sundararajan A, Suryawanshi A, Kumar N, Veiga-Parga T, Kuchroo VK, Thomas PG, Sangster MY, Rouse BT. T cell immunoglobulin and mucin protein-3 (Tim-3)/Galectin-9 interaction regulates influenza A virus-specific humoral and CD8 T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 19001-19006 [PMID: 22052881 DOI: 10.1073/pnas.1107087108]
- 13 Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, Manning S, Greenfield EA, Coyle AJ, Sobel RA, Freeman GJ, Kuchroo VK. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature* 2002; 415: 536-541 [PMID: 11823861 DOI: 10.1038/415536a]
- 14 Jayaraman P, Sada-Ovalle I, Beladi S, Anderson AC, Dardalhon V, Hotta C, Kuchroo VK, Behar SM. Tim3 binding to galectin-9 stimulates antimicrobial immunity. *J Exp Med* 2010; 207: 2343-2354 [PMID: 20937702 DOI: 10.1084/jem.20100687]
- 15 Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, Zheng XX, Strom TB, Kuchroo VK. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* 2005; 6: 1245-1252 [PMID: 16286920 DOI: 10.1038/ni1271]
- 16 Türeci O, Schmitt H, Fadle N, Pfreundschuh M, Sahin U. Molecular definition of a novel human galectin which is immunogenic in patients with Hodgkin's disease. *J Biol Chem* 1997; 272: 6416-6422 [PMID: 9045665 DOI: 10.1074/jbc.272.10.6416]
- 17 Wada J, Kanwar YS. Identification and characterization of galectin-9, a novel beta-galactoside-binding mammalian lectin. *J Biol Chem* 1997; 272: 6078-6086 [PMID: 9038233 DOI: 10.1074/jbc.272.9.6078]
- 18 Anderson AC, Anderson DE. TIM-3 in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 665-669 [PMID: 17011764 DOI: 10.1016/j.coi.2006.09.009]
- 19 Kashio Y, Nakamura K, Abedin MJ, Seki M, Nishi N, Yoshida N, Nakamura T, Hirashima M. Galectin-9 induces apoptosis through the calcium-calpain-caspase-1 pathway. *J Immunol* 2003; 170: 3631-3636 [PMID: 12646627]
- 20 Seki M, Oomizu S, Sakata KM, Sakata A, Arikawa T, Watanabe K, Ito K, Takeshita K, Niki T, Saita N, Nishi N, Yamauchi A, Katoh S, Matsukawa A, Kuchroo V, Hirashima M. Galectin-9 suppresses the generation of Th17, promotes the induction of regulatory T cells, and regulates experimental autoimmune arthritis. *Clin Immunol* 2008; 127: 78-88 [PMID: 18282810 DOI: 10.1016/j.clim.2008.01.006]
- 21 Bi S, Earl LA, Jacobs L, Baum LG. Structural features of galectin-9 and galectin-1 that determine distinct T cell death pathways. *J Biol Chem* 2008; 283: 12248-12258 [PMID: 18258591 DOI: 10.1074/jbc.M800523200]
- 22 DeKruyff RH, Bu X, Ballesteros A, Santiago C, Chim YL, Lee HH, Karisola P, Pichavant M, Kaplan GG, Umetsu DT, Freeman GJ, Casasnovas JM. T cell/transmembrane, Ig, and mucin-3 allelic variants differentially recognize phosphatidylserine and mediate phagocytosis of apoptotic cells. *J Im-*

■应用要点

Tim-3与配体及其相关调控因子在消化系统疾病中表达失调或功能异常, 有望通过改变其表达或修复其功能, 指导临床疗效评估及药物的靶向治疗。

■同行评价

本文就Tim-3在肝病病毒性肝炎、胃炎、炎症性肠病、消化系统肿瘤等疾病发生、发展中生物学作用进行阐述,具有一定的新颖性和临床参考价值。

- munol 2010; 184: 1918-1930 [PMID: 20083673 DOI: 10.4049/jimmunol.0903059]
- 23 Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, Yagita H, Okumura K. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood* 2009; 113: 3821-3830 [PMID: 19224762 DOI: 10.1182/blood-2008-10-185884]
- 24 Webster GJ, Reignat S, Brown D, Ogg GS, Jones L, Seneviratne SL, Williams R, Dusheiko G, Bertoletti A. Longitudinal analysis of CD8+ T cells specific for structural and nonstructural hepatitis B virus proteins in patients with chronic hepatitis B: implications for immunotherapy. *J Virol* 2004; 78: 5707-5719 [PMID: 15140968 DOI: 10.1128/JVI.78.11.5707-5719.2004]
- 25 Chisari FV, Isogawa M, Wieland SF. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 258-266 [PMID: 20116937 DOI: 10.1016/j.patbio.2009.11.001]
- 26 Wu W, Shi Y, Li J, Chen F, Chen Z, Zheng M. Tim-3 expression on peripheral T cell subsets correlates with disease progression in hepatitis B infection. *Virol J* 2011; 8: 113 [PMID: 21392402 DOI: 10.1186/1743-422X-8-113]
- 27 Ju Y, Hou N, Meng J, Wang X, Zhang X, Zhao D, Liu Y, Zhu F, Zhang L, Sun W, Liang X, Gao L, Ma C. T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2010; 52: 322-329 [PMID: 20133006 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.005]
- 28 Wu W, Shi Y, Li S, Zhang Y, Liu Y, Wu Y, Chen Z. Blockade of Tim-3 signaling restores the virus-specific CD8+ T-cell response in patients with chronic hepatitis B. *Eur J Immunol* 2012; 42: 1180-1191 [PMID: 22539292 DOI: 10.1002/eji.201141852]
- 29 Golden-Mason L, Palmer BE, Kassam N, Townshend-Bulson L, Livingston S, McMahon BJ, Castellblanco N, Kuchroo V, Gretch DR, Rosen HR. Negative immune regulator Tim-3 is overexpressed on T cells in hepatitis C virus infection and its blockade rescues dysfunctional CD4+ and CD8+ T cells. *J Virol* 2009; 83: 9122-9130 [PMID: 19587053 DOI: 10.1128/JVI.00639-09]
- 30 McMahon RH, Golden-Mason L, Nishimura MI, McMahon BJ, Kemper M, Allen TM, Gretch DR, Rosen HR. Tim-3 expression on PD-1+ HCV-specific human CTLs is associated with viral persistence, and its blockade restores hepatocyte-directed in vitro cytotoxicity. *J Clin Invest* 2010; 120: 4546-4557 [PMID: 21084749 DOI: 10.1172/JCI43127]
- 31 Vali B, Jones RB, Sakhdari A, Sheth PM, Clayton K, Yue FY, Gyenes G, Wong D, Klein MB, Saeed S, Benko E, Kovacs C, Kaul R, Ostrowski MA. HCV-specific T cells in HCV/HIV co-infection show elevated frequencies of dual Tim-3/PD-1 expression that correlate with liver disease progression. *Eur J Immunol* 2010; 40: 2493-2505 [PMID: 20623550 DOI: 10.1002/eji.201040340]
- 32 Zhang Y, Ma CJ, Wang JM, Ji XJ, Wu XY, Jia ZS, Moorman JP, Yao ZQ. Tim-3 negatively regulates IL-12 expression by monocytes in HCV infection. *PLoS One* 2011; 6: e19664 [PMID: 21637332 DOI: 10.1371/journal.pone.0019664]
- 33 Mengshol JA, Golden-Mason L, Arikawa T, Smith M, Niki T, McWilliams R, Randall JA, McMahon R, Zimmerman MA, Rangachari M, Dobrinskikh E, Busson P, Polyak SJ, Hirashima M, Rosen HR. A crucial role for Kupffer cell-derived galectin-9 in regulation of T cell immunity in hepatitis C infection. *PLoS One* 2010; 5: e9504 [PMID: 20209097 DOI: 10.1371/journal.pone.0009504]
- 34 Hu S, Xie Y, Zhou N, Jin L, Tan Y, Liu D, Gong Y, Liu L, Liu J, Liu W, Chen Y, Zhang Y, Lv N. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecules-1 and -3 (Tim-1 and Tim-3) in *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2011; 16: 373-381 [PMID: 21923683 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00855.x]
- 35 Li H, Wu K, Tao K, Chen L, Zheng Q, Lu X, Liu J, Shi L, Liu C, Wang G, Zou W. Tim-3/galectin-9 signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 56: 1342-1351 [PMID: 22505239 DOI: 10.1002/hep.25777]
- 36 Li Z, Liu Z, Zhang G, Han Q, Li N, Zhu Q, Lv Y, Chen J, Xing F, Wang Y, Li F. TIM3 gene polymorphisms in patients with chronic hepatitis B virus infection: impact on disease susceptibility and hepatocellular carcinoma traits. *Tissue Antigens* 2012; 80: 151-157 [PMID: 22587604 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2012.01898.x]
- 37 Li Z, Li N, Zhu Q, Zhang G, Han Q, Zhang P, Xun M, Wang Y, Zeng X, Yang C, Liu Z. Genetic variations of PD1 and TIM3 are differentially and interactively associated with the development of cirrhosis and HCC in patients with chronic HBV infection. *Infect Genet Evol* 2013; 14: 240-246 [PMID: 23291409 DOI: 10.1016/j.meegid.2012.12.008]
- 38 Longhi MS, Hussain MJ, Mitry RR, Arora SK, Mieli-Vergani G, Vergani D, Ma Y. Functional study of CD4+CD25+ regulatory T cells in health and autoimmune hepatitis. *J Immunol* 2006; 176: 4484-4491 [PMID: 16547287]
- 39 Liberal R, Grant CR, Holder BS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/tim-3 pathway. *Hepatology* 2012; 56: 677-686 [PMID: 22371007 DOI: 10.1002/hep.25682]
- 40 Hirschfield GM, Gershwin ME. The immunobiology and pathophysiology of primary biliary cirrhosis. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 303-330 [PMID: 23347352 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164014]
- 41 Lv K, Zhang Y, Zhang M, Zhong M, Suo Q. Galectin-9 ameliorates Con A-induced hepatitis by inducing CD4(+)CD25(low/int) effector T-Cell apoptosis and increasing regulatory T cell number. *PLoS One* 2012; 7: e48379 [PMID: 23118999 DOI: 10.1371/journal.pone.0048379]
- 42 Zhai Y, Shen XD, O'Connell R, Gao F, Lassman C, Busuttil RW, Cheng G, Kupiec-Weglinski JW. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004; 173: 7115-7119 [PMID: 15585830]
- 43 Uchida Y, Ke B, Freitas MC, Yagita H, Akiba H, Busuttil RW, Najafian N, Kupiec-Weglinski JW. T-cell immunoglobulin mucin-3 determines severity of liver ischemia/reperfusion injury in mice in a TLR4-dependent manner. *Gastroenterology* 2010; 139: 2195-2206 [PMID: 20637206 DOI: 10.1053/

- j.gastro.2010.07.003]
- 44 Hu S, Xie Y, Zhou N, Jin L, Tan Y, Liu D, Gong Y, Liu L, Liu J, Liu W, Chen Y, Zhang Y, Lv N. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecules-1 and -3 (Tim-1 and Tim-3) in *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2011; 16: 373-381 [PMID: 21923683 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00855.x]
- 45 Xie Y. The influence of blocking Tim-3 signal pathway on immune pathopoiesis of *H. pylori* infection and TLRs signal pathway. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 268-268
- 46 Xie Y. The influence of blocking Tim-3 signal pathway on immune pathopoiesis of *H. pylori* infection and Th immune respond. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 17
- 47 Xie Y. The influence of blocking Tim-3 signal pathway on immune protection of *H. pylori* vaccine and Th immune respond. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 93
- 48 Morimoto K, Hosomi S, Yamagami H, Watanabe K, Kamata N, Sogawa M, Machida H, Okazaki H, Tanigawa T, Nagahara H, Noda E, Tominaga K, Watanabe T, Fujiwara Y, Maeda K, Hirakawa K, Arakawa T. Dysregulated upregulation of T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 on mucosal T helper 1 cells in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 701-709 [PMID: 21463244 DOI: 10.3109/00365521.2011.568518]
- 49 Li X, Chen G, Li Y, Wang R, Wang L, Lin Z, Gao X, Feng J, Ma Y, Shen B, Li Y, Han G. Involvement of T cell Ig Mucin-3 (Tim-3) in the negative regulation of inflammatory bowel disease. *Clin Immunol* 2010; 134: 169-177 [PMID: 19913460 DOI: 10.1016/j.clim.2009.09.012]
- 50 钟玖君. Tim-3信号通路在小鼠实验性结肠炎中的作用. 南昌大学, 2012
- 51 Obeng BB, Amoah AS, Larbi IA, Yazdanbakhsh M, van Ree R, Boakye DA, Hartgers FC. Food allergy in Ghanaian schoolchildren: data on sensitization and reported food allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 63-73 [PMID: 21109750 DOI: 10.1159/000318704]
- 52 Chen X, Song CH, Liu ZQ, Feng BS, Zheng PY, Li P, In SH, Tang SG, Yang PC. Intestinal epithelial cells express galectin-9 in patients with food allergy that plays a critical role in sustaining allergic status in mouse intestine. *Allergy* 2011; 66: 1038-1046 [PMID: 21426359 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02585.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

通过测定不同途径5-FU化疗后家兔门静脉血及组织中的药物浓度比较各途径的化疗效果

杨建武, 姜福全, 江文俊, 黄玉玲, 崔彦

■背景资料

腹腔内化疗最早应用于控制卵巢癌患者腹水, 因其较静脉给药能够显著提高腹腔药物浓度, 现已广泛应用于多种腹腔内肿瘤或转移灶的治疗, 但此种给药方式往往造成血药浓度迅速达到峰值而后快速衰减, 不良反应较大且不利于持续杀灭肿瘤, 本文利用缓释剂使药物缓慢释放, 观察血药浓度的达峰和衰减情况。

杨建武, 姜福全, 江文俊, 黄玉玲, 崔彦, 中国人民解放军306医院普通外科 北京市 100101

杨建武, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 杨建武与姜福全对此文贡献均等; 此课题由杨建武与姜福全设计、组织实施; 江文俊与黄玉玲负责实验实施; 崔彦负责审核。

通讯作者: 姜福全, 主治医师, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 中国人民解放军306医院普通外科。

yangjianwuandhuang@163.com

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-07-19

接受日期: 2013-07-20 在线出版日期: 2013-08-08

Different chemotherapy effects of 5-FU given via different routes of administration

Jian-Wu Yang, Fu-Quan Jiang, Wen-Jun Jiang, Yu-Ling Huang, Yan Cui

Jian-Wu Yang, Fu-Quan Jiang, Wen-Jun Jiang, Yu-Ling Huang, Yan Cui, Department of General Surgery, the 306th Hospital of PLA, Beijing 100101, China

Correspondence to: Fu-Quan Jiang, Attending Physician, Department of General Surgery, the 306th Hospital of PLA, 9 Anxiang Beili, Chaoyang District, Beijing 100101, China. yangjianwuandhuang@163.com

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-07-19

Accepted: 2013-07-20 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To determine the concentration of 5-fluorouracil (5-FU) in the portal vein blood and liver in a rabbit model after chemotherapy with 5-FU given via different routes of administration.

METHODS: The portal vein blood and liver biopsy were collected at different time points after intravenous chemotherapy, intraperitoneal chemotherapy or intraperitoneal sustained-releasing chemotherapy with 5-FU. The concentration of 5-FU was measured by HPLC. The area under the concentration-time curve (AUC) was calculated based on the concentration-time curve.

RESULTS: The concentration of 5-FU in the portal vein reached the peak (0.82 $\mu\text{g/mL}$) two hours after intraperitoneal administration of sustained-releasing agents. The concentration of

5-FU in the portal vein was stable and the drug could be detected until day 16 after treatment. In contrast, the average concentration of 5-FU in the portal vein of animals receiving intraperitoneal injection of 5-FU was 20.67 $\mu\text{g/mL}$ 15 minutes after injection and the drug was undetectable 24 h later. 5-FU in the portal vein of animals receiving intravenous chemotherapy was undetectable 4 h later. AUC in the intravenous, intraperitoneal and sustained-releasing groups was 21.57 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 42.85 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ and 70.08 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, respectively. 5-FU in liver biopsy could be detected until day 12 after intraperitoneal administration of sustained-releasing agents. In contrast, 5-FU in liver biopsy was undetectable 24 h later in animals receiving intraperitoneal injection of 5-FU.

CONCLUSION: Intraperitoneal sustained-releasing chemotherapy may prolong the effective exposure time of 5-FU in the portal vein and enhance chemotherapeutic effects in the liver.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: 5-Fluorouracil; Delayed-action preparations; Chromatography

Yang JW, Jiang FQ, Jiang WJ, Huang YL, Cui Y. Different chemotherapy effects of 5-FU given via different routes of administration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2176-2180 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2176.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2176>

摘要

目的: 测定不同途径5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)化疗后家兔门静脉血及肝脏组织中的药物浓度。

方法: 以家兔为模型动物分别进行5-FU静脉化疗、腹腔化疗和缓释化疗, 用高效液相色谱法测定门静脉血及组织中5-FU浓度。根据各组门静脉血药浓度-时间曲线, 计算曲线下面积 (area under the concentration-time curve, AUC)。

■同行评议者

刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室; 俞继卫, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外科(胃肠外科)

结果: 静脉组血药浓度在给药后即刻达到峰值, 15 min仍高达47.89 $\mu\text{g/mL}$, 但仅能维持4 h; 腹腔组给药后15 min达到血药浓度峰值(20.67 $\mu\text{g/mL}$), 维持时间较静脉组稍长, 可达到24 h; 缓释组在给药后2 h达到最高值0.82 $\mu\text{g/mL}$, 且持续时间较长, 16 d后仍可检测到. 3组血药浓度AUC依次升高, 分别为21.57 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 、42.85 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 和70.08 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$. 同时, 缓释组各组织5-FU浓度消除显著减慢, 给药12 d后肝组织中仍可测到, 腹腔组组织药物浓度仅维持至给药后24 h.

结论: 5-FU腹腔内缓释化疗可显著延长门静脉血及肝脏组织中5-FU持续时间, 有助于增强化疗效果.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 5-氟尿嘧啶; 缓释剂; 色谱法

核心提示: 腹腔注射5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)缓释剂能够显著延缓血药浓度上升, 延长有效药物浓度维持时间, 增加肝转移癌局部药物浓度, 有利于提高治疗效果.

杨建武, 姜福全, 江文俊, 黄玉玲, 崔彦. 通过测定不同途径5-FU化疗后家兔门静脉血及组织中的药物浓度比较各途径的化疗效果. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2176-2180 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2176.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2176>

0 引言

腹腔内化疗最早应用于控制卵巢癌患者腹水^[1], 因其较静脉给药能够显著提高腹腔药物浓度, 现已广泛应用于多种腹腔内肿瘤或转移灶的治疗, 但此种给药方式往往瞬间达到血药峰值, 而后迅速衰减, 不良反应较大且不利于持续杀灭肿瘤. 因此, 本研究将以家兔为模型动物, 探讨腹腔内缓释化疗方案对腹腔内化疗的改进作用.

1 材料和方法

1.1 材料 家兔56只, 雌雄各半, 平均体质量2.5 kg \pm 0.1 kg, 由中国人民解放军第二军医大学实验动物中心提供, 清洁级动物实验室条件下饲养.

1.2 方法

1.2.1 分组方法: 56只家兔按照雌雄配对的原则随机分为静脉组($n = 8$): 股静脉注入5-FU(60 mg/kg), 同时腹腔内注入100 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水; 腹腔组($n = 20$): 腹腔内注入5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)(60 mg/kg)+100 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水; 缓释

组($n = 28$): 腹腔内注入5-FU缓释剂5-FU(60 mg/kg)+100 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水. 5-FU: 上海海普制药厂; 5-FU缓释剂(sustained released fluorouracil): 芜湖中人药业有限责任公司.

1.2.2 标本采集: 分别于给药后15、30 min、1、2、4、24 h、2、4、8、12和16 d取门静脉血3 mL, 并对腹腔组和缓释组取肝、胃、结肠、肾、肺各3 g.

1.2.3 检测方法: 采用高效液相色谱法测定样本中5-FU浓度, 条件如下: 流动相: 甲醇-水(5: 95), 比例可根据需要进行微调, 微调范围4: 96-7: 93(甲醇-水), 流动相流速: 0.8-1.0 mL/min. 检测器: 紫外分光光度计, 测定波长: 266 nm. 经色谱适用性试验研究, 5-FU出峰时间($t_{\text{R}}5\text{-FU}$)约6 min附近, 5-Bru出峰时间($t_{\text{R}}5\text{-Bru}$)约12 min附近. 仪器的基线噪声为 $\text{RN} = 0.05 \text{ mV}$, 按3 RN计算的血浆及腹腔液5-FU最小检出浓度为0.02 $\mu\text{g/mL}$, 定量限为0.06 $\mu\text{g/mL}$. 组织样的5-FU最小检出浓度为0.03 $\mu\text{g/g}$, 定量限为0.06 $\mu\text{g/g}$.

2 结果

5-FU色谱质量血浆和组织中5-FU色谱图均显示5-FU峰和内标物峰均能达到良好分离(图1).

静脉组、腹腔组和缓释组达峰时间依次推迟, 静脉组在给药即刻达到血药浓度峰值, 并随时间推移逐渐衰减, 腹腔组在给药后15 min达到血药浓度峰值, 缓释组在给药后2 h达到血药浓度峰值; 3组药物浓度持续时间依次延长, 静脉组仅能维持至给药后4 h, 腹腔组可延长至24 h, 缓释组在给药后16 d仍可测到少量5-FU(图2). 根据以上数据绘制门静脉血药浓度-时间曲线, 静脉组、腹腔组和缓释组依次增加, 分别为21.57 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 、42.85 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 和70.08 $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$.

除了静脉组外, 腹腔组和缓释组均对肝、胃、结肠、肾、肺进行组织药物浓度测定. 从组织角度来看, 两组均以肝组织中的药物浓度最高, 其次是胃和结肠, 以肺和肾中的药物浓度最低; 从时间角度来看, 缓释组较腹腔组药物浓度消除显著减缓, 甚至在给药后12 d仍可测得(图3, 4).

3 讨论

消化系统肿瘤晚期常见肝脏转移, 对于部分丧失手术机会的患者而言, 化疗是唯一能够改善症状、延长生命的治疗方法^[2], 尤其是提高肝脏内

■ 研发前沿

为了提高化疗药物治疗消化系统肿瘤肝转移的效果, 大量研究从给药方式、药物配伍等方面给出了建议, 但如何在降低疗效的前提下减少化疗药物的剂量, 从而减轻化疗药物的不良反应一直是亟待解决的问题.

■应用要点

消化系统肿瘤肝转移可以选择采用5-FU腹腔注射缓释制剂的办法,有利于减少血药浓度波动,长期维持有效药物浓度。

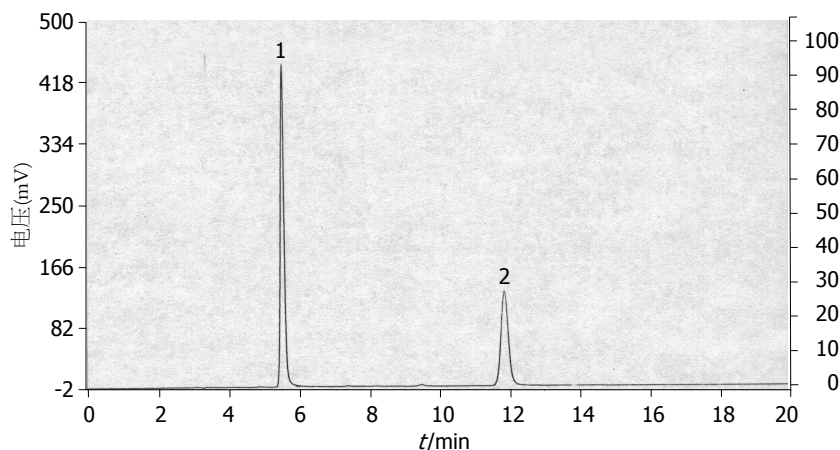


图1 血浆中提取的5-氟尿嘧啶色谱图。

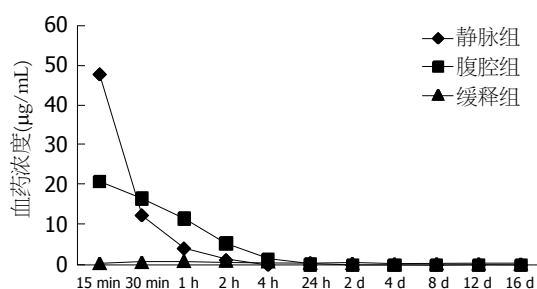


图2 3组血药浓度变化。

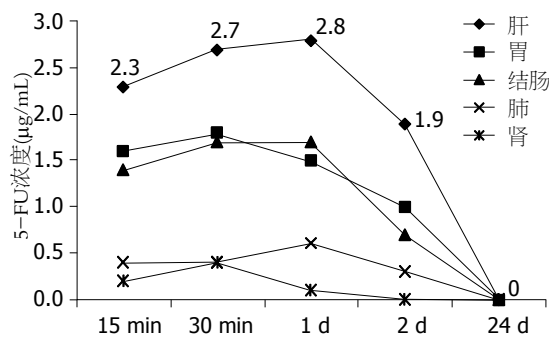


图3 腹腔组家兔不同时间组织中5-FU平均浓度。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

化疗药物浓度,对于抑制肿瘤细胞生长繁殖,具有预防和治疗的双重意义^[3];门静脉是肝脏最主要的血运管道,门静脉药物浓度越高,药物维持有效浓度时间越长,对肝脏转移灶的预防和治疗效果越好^[4]。本实验通过对3组实验动物门静脉血中药物浓度的测定,旨在比较不同化疗方式对肝脏转移灶的治疗作用。

大剂量腹腔化疗方法治疗中晚期消化系统恶性肿瘤已经成为国内外共识,某些抗肿瘤药物经腹腔直接注入可显著提高腹腔药物浓度,腹腔内药物的代谢主要是通过门静脉循环入肝,也有部分通腹膜吸收,因此作为腹腔液体主要

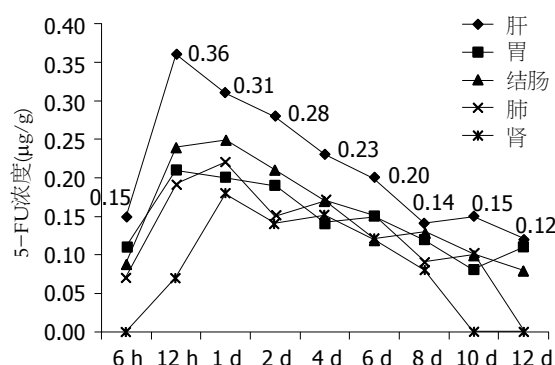


图4 缓释组家兔不同时间组织中5-FU平均浓度。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

回流血管,腹腔给药时门静脉的血药浓度也较静脉给药大幅增加,有助于控制肝脏肿瘤细胞增殖^[5,6];有学者分别采用大剂量5-FU对家兔进行腹腔化疗、静脉化疗和口服化疗,发现腹腔化疗的腹腔液5-FU浓度最高,其次是门静脉,分别达到了股静脉的206倍和6.7倍,而静脉化疗组的门静脉血药浓度和股静脉十分接近,腹腔液的血药浓度还要低于门静脉和股静脉的血药浓度^[7]。而也有学者发现腹腔内接种结肠癌细胞的裸鼠在经过腹腔化疗后,致瘤率较静脉化疗显著降低,且裸鼠存活时间也更长^[8],这些均证实了腹腔内化疗的优越性。Archer等^[9]进一步对比了不同给药方式对大鼠门静脉和腹腔结肠癌种植的治疗效果,结果显示,静脉给药和腹腔给药对于肝脏肿瘤的抑制作用接近,但后者对腹腔内转移的抑制作用更显著。不仅是5-FU,其他部分化疗药物也具有类似特点,如奥沙利铂,腹腔给药时其腹腔液曲线下面积(area under the concentration-time curve, AUC)是血浆AUC的15倍^[10],腹膜的药物峰值浓度是血浆的25倍^[11];此外, Hofstra等^[12]还证实,拓扑替康腹腔化疗的平

均腹腔液AUC是血浆的54倍±34倍, 此外还包括伊利替康等, 均有实验显示腹腔给药能够使药物在肝脏和腹腔内保持较长时间; 与静脉给药相比更有利于控制腹膜转移和肝脏转移^[13].

我们在本实验中观察到静脉组动物给药后门静脉血中5-FU浓度最高, 但持续时间较短, 给药4 h后门静脉血中已经无法检测到5-FU; 腹腔组动物给药后15 min门静脉中5-FU达20.67 μg/mL, 但浓度下降十分迅速, 在给药4 h后已降至1.27 μg/mL, 24 h后降至0.09 μg/mL, 与以往研究结果相近. 有研究显示, 大剂量5-FU(100 mg/kg)腹腔化疗后腹腔内5-FU的半衰期约为3.8 h^[4]. 虽然腹腔化疗已经比静脉化疗延长了门静脉血药物持续时间, 并增大了药物浓度时间曲线中的AUC, 但其维持时间仍不足24 h. 同时我们还发现缓释组动物约在给药后2 h门静脉血药浓度最高, 且持续时间较长, 其最大的优势在于随时间延长门静脉血药浓度变化较小, 在给药后16 d仍可测出, 并且药物浓度-时间曲线中的AUC更大, 提示腹腔缓释化疗更加有利于延长化疗药物对肝脏组织作用的时间, 进而提高其对消化系统肿瘤肝脏转移的治疗效果. 而对肝脏组织的药物浓度测定也得出了相似的结果, 腹腔组动物组织内药物仅能维持24 h, 而缓释组各组织中药物浓度维持时间均均较长, 其中肝在给药后12 d仍可测出5-FU. 梁寒等^[14]用活性炭吸附丝裂霉素行裸鼠模型的腹腔内缓释化疗, 其结果表明腹腔液、大网膜和腹腔淋巴结等均可达到较高的药物浓度, 并可维持24 h以上, 其浓度比静脉化疗组和常规腹腔注射丝裂霉素组均高, 且差异均有统计学意义.

化疗药物疗效除与肿瘤细胞对药物的敏感性有关外, 还取决于作用于靶组织的化疗药物浓度(C)以及药物与肿瘤细胞的作用持续时间(T)等^[15]. 多数化疗药物在一定范围内呈浓度依赖性和时间依赖性, 即局部组织药物浓度越高, 药物与肿瘤相互作用时间的越长, 则肿瘤杀灭效果越好. 5-FU也是一种时间依赖性抗化疗药, 通过比较AUC面积, 即门静脉5-FU的C×T值, 可以发现缓释组对肿瘤杀灭的作用优于腹腔组, 而腹腔组的疗效又优于静脉组, 提示5-FU腹腔内缓释化疗方案与腹腔化疗相比, 对预防恶性肿瘤的肝脏转移有更好的疗效.

本实验证实了腹腔内缓释化疗较腹腔化疗具有增加靶组织药物浓度和作用时间的双重优势, 同时还能够延长门静脉血中药物的维持时

间, 增强对肝脏的化疗效果, 进一步放大了腹腔内化疗的优势, 由于其血药浓度缓慢升高且始终处于较低水平因此也可减少全身不良反应, 为临床上腹腔内肿瘤转移的患者提供更为合理的治疗方式. 同时, 考虑临床实际情况, 术中可将该药物在剥离创面和可能的肿瘤残余部位选择性应用, 更有助于提高对腹腔内残留肿瘤治疗的针对性.

4 参考文献

- 1 Gaillard S, Armstrong D. Intraperitoneal chemotherapy for advanced epithelial ovarian cancer: many questions, much promise. *Oncology* (Williston Park) 2011; 25: 176, 178, 180 [PMID: 21456389]
- 2 Rammohan A, Sathyanesan J, Rajendran K, Pitchaimuthu A, Perumal SK, Srinivasan U, Ramasamy R, Palaniappan R, Govindan M. A gist of gastrointestinal stromal tumors: A review. *World J Gastrointest Oncol* 2013; 5: 102-112 [PMID: 23847717 DOI: 10.4251/wjgo.v5.i6.102]
- 3 Haraldsdottir S, Wu C, Bloomston M, Goldberg RM. What is the optimal neo-adjuvant treatment for liver metastasis? *Ther Adv Med Oncol* 2013; 5: 221-234 [PMID: 23858331 DOI: 10.1177/1758834013485111]
- 4 Yu DS, Li Y, Huang XE, Lu YY, Wu XY, Liu J, Cao J, Xu X, Xiang J, Wang GP. Effect of portal vein chemotherapy on liver metastasis after surgical resection of colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4699-4701 [PMID: 23167405]
- 5 Speyer JL. The rationale behind intraperitoneal chemotherapy in gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol* 1985; 12: 23-28 [PMID: 4048973]
- 6 Gyves J. Pharmacology of intraperitoneal infusion 5-fluorouracil and mitomycin-C. *Semin Oncol* 1985; 12: 29-32 [PMID: 3931225]
- 7 韩晓燕, 卫洪波, 连建学, 张练, 娄朝轩, 汪雁明. 5-氟尿嘧啶不同给药途径的药代动力学研究和临床应用. *中国新药杂志* 1999; 8: 20-23
- 8 卿三华, 周锡庚, 周正端, 丁长因, 姚明. 高剂量大容积5-FU腹腔化疗药代动力学和疗效实验观察. *中国肿瘤临床* 1996; 23: 2-5
- 9 Archer S, Gray B. Intraperitoneal 5-fluorouracil infusion for treatment of both peritoneal and liver micrometastases. *Surgery* 1990; 108: 502-507 [PMID: 2396194]
- 10 Pestieau SR, Belliveau JF, Griffin H, Stuart OA, Sugarbaker PH. Pharmacokinetics of intraperitoneal oxaliplatin: experimental studies. *J Surg Oncol* 2001; 76: 106-114 [PMID: 11223836]
- 11 Elias D, Bonnay M, Puizillou JM, Antoun S, Demirdjian S, El OA, Pignon JP, Drouard-Troalen L, Ouellet JF, Ducreux M. Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution. *Ann Oncol* 2002; 13: 267-272 [PMID: 11886004]
- 12 Hofstra LS, Bos AM, de Vries EG, van der Zee AG, Beijnen JH, Rosing H, Mulder NH, Aalders JG, Willemse PH. A phase I and pharmacokinetic study of intraperitoneal topotecan. *Br J Cancer* 2001; 85: 1627-1633 [PMID: 11742479]
- 13 Maruyama M, Nagahama T, Ebuchi M, Yuasa Y.

■名词解释

缓释剂: 能够使药物缓慢释放入血, 延长药物作用时间的制剂, 通常是采用胶囊包裹的方式.

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 结论可信, 对临床工作者有很好的参考价值.

[Experimental study on intraperitoneal versus intravenous CPT-11 for peritoneal seeding and liver metastasis]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2000; 27: 1855-1857 [PMID: 11086429]

14 梁寒, 唐贺文, 郝希山, 孙慧, 李雯. 活性炭吸附丝裂霉

素C腹腔化疗的药代动力学研究. *中华肿瘤杂志* 2005; 27: 412-415

15 Clive Page. Principles of cell proliferation and chemotherapy. *Integrated Pharmacology*. 2nd ed. London: Mosby, UK, 2002: 167

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

脂多糖对肝内胆管上皮细胞MUC5AC表达的影响

李敏, 田雨, 吴硕东, 李勇男

李敏, 田雨, 吴硕东, 李勇男, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科 辽宁省沈阳市 110004

李敏, 在读硕士, 主要从事胆石成因和微创外科的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070365

盛京自由研究者基金资助项目, No. 201001

作者贡献分布: 本课题由田雨与吴硕东设计; 研究过程由李敏与李勇男完成; 数据分析由李敏完成; 论文写作由李敏与田雨共同完成。

通讯作者: 吴硕东, 教授, 主任医师, 110004, 沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科。

wushuodong@yahoo.com

收稿日期: 2013-05-02 修回日期: 2013-06-27

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

LPS induces MUC5AC expression in human biliary epithelial cells

Min Li, Yu Tian, Shuo-Dong Wu, Yong-Nan Li

Min Li, Yu Tian, Shuo-Dong Wu, Yong-Nan Li, Department of Biliary and Vascular Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070365; the Outstanding Scientific Fund of Shengjing Hospital, No. 201001

Correspondence to: Shuo-Dong Wu, Professor, Chief Physician, Department of Biliary and Vascular Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. wushuodong@yahoo.cn

Received: 2013-05-02 Revised: 2013-06-27

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To examine whether lipopolysaccharide (LPS) stimulates MUC5AC expression in human biliary epithelial cells.

METHODS: Human biliary epithelial cells were treated with LPS, and MUC5AC mRNA and protein expression was detected by real time-PCR, Western blot and immunohistochemistry 12 and 24 h after LPS treatment.

RESULTS: LPS stimulation significantly increased MUC5AC mRNA expression (3.67 ± 0.22 vs 1.00 ± 0.05 , $P < 0.05$). MUC5AC protein expression was also increased after LPS treatment (0.26 vs 0.59 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: LPS can induce MUC5AC ex-

pression in human biliary epithelial cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Lipopolysaccharide; Mucin

Li M, Tian Y, Wu SD, Li YN. LPS induces MUC5AC expression in human biliary epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2181-2184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2181.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2181>

摘要

目的: 研究体外条件下脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激是否引起黏蛋白MUC5AC表达上调。

方法: 体外培养人肝内胆管上皮细胞, 并加入LPS干预, 分别于12和24 h检测MUC5AC mRNA和蛋白含量变化。

结果: LPS刺激导致MUC5AC mRNA表达。Ct值以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算分别为正常细胞组 1.00 ± 0.05 , LPS组 3.67 ± 0.22 ($P < 0.05$)。同时, LPS可刺激MUC5AC蛋白表达, Western blot灰度分析相对比分别为正常细胞组0.26, LPS干预组0.59。

结论: LPS可以诱导黏蛋白MUC5AC的高表达。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 脂多糖; 黏蛋白

核心提示: 本文由临床常见的两个现象入手, 旨在发现脂多糖(lipopolysaccharide)与黏蛋白表达增高之间的关系, 近而希望发现肝内胆管结石治疗的新靶点。

李敏, 田雨, 吴硕东, 李勇男. 脂多糖对肝内胆管上皮细胞MUC5AC表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2181-2184 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2181.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2181>

0 引言

肝胆管结石是严重威胁国人健康的常见病。在肝胆管结石形成过程中, 分泌黏液的肝内胆

■背景资料

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)导致黏蛋白表达增加在呼吸道中研究较多, 目前认为在肺泡纤维化、支气管哮喘等疾病过程中起重要作用, 但在胆道中研究甚少。本研究采取体外环境下以LPS干预肝内胆管上皮细胞研究LPS在胆道系统中是否同样增加黏蛋白表达。

■研发前沿

目前呼吸道中关于LPS与黏蛋白研究集中于离子通路、细胞因子等方面。



图1 肝内胆管上皮细胞生长状态。

管的慢性增生性胆管炎是其病变的关键病变。正常人胆汁是无菌的,而在胆石症患者胆汁中产脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的G杆菌,尤其是大肠杆菌和克雷伯杆菌非常常见^[1]。黏蛋白MUC5AC是一种分泌型蛋白,在正常肝内胆管中几乎不表达或仅少量表达,而在肝胆管结石患者的胆汁中却大量表达^[2]。近年来关于LPS致黏蛋白表达上调的研究多集中于呼吸道上皮的研究,而在胆道上皮鲜有报道。本研究通过对正常肝内胆管上皮细胞予以LPS刺激,初步探讨胆道系统中LPS与黏蛋白表达上调的关系,为研究胆系感染与肝胆管结石关系的研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝内胆管上皮细胞(HIBEpiC)及上皮细胞专用培养基购自Sciencell公司,置于37℃、50 mL/L CO₂孵箱中培养,细胞隔天更换培养基,生长至融合度90%时以1:2-1:3比例传代。以脂多糖(LPS,提取自大肠杆菌,血清型O55: B5, Sigma公司)以1 μg/mL^[3]干预HIBEpiC(图1)。

1.2 方法

1.2.1 Real time-PCR: TRIzol法(购自Takara公司)抽提总RNA,并用分光光度仪测定RNA浓度, PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser(Takara公司)将RNA反转录为cDNA, SYBR Premix Ex Taq(Takara公司)进行荧光定量反应,引物序列MUC5AC: F'-TGGACACCAAATAC-GCCAACAAG, R'-CTGCTCACAGATGC-CAAAGCC; β-actin: F'-CTTAGTTGCGTTA-CACCCTTTCTTG, R'-CTGTACCTTCACCGTTCCAGTTT, 反应体系如下: 95℃ 5 s, 60℃ 20 s, 72℃ 30 s, 共40个循环,所得Ct值用2^{-ΔΔCt}计算,其中β-actin为内参。

1.2.2 Western blot检测细胞MUC5AC蛋白含量: 细胞以0.25%胰酶消化后PBS洗3遍,加入细胞

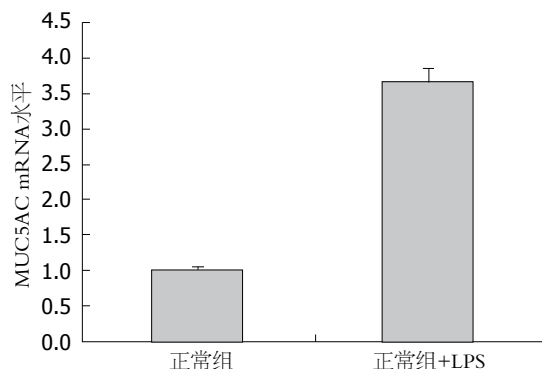


图2 MUC5AC mRNA的表达。以LPS(1 μg/mL)干预HIBEpiC, 12 h后检测细胞MUC5AC mRNA水平,将所得Ct值以2^{-ΔΔCt}计算,正常细胞组为1.00 ± 0.05, LPS干预组为3.67 ± 0.22,可见LPS干预组mRNA表达水平明显上调。LPS: 脂多糖。

裂解液(碧云天)充分吹打细胞,冰浴30 min, 4℃ 12000 g离心30 min,取上清测定蛋白浓度。取各组细胞蛋白20 μg, 8% SDS-PAGE电泳分离,转膜至PVDF膜, 5%脱脂奶粉封闭1 h,一抗(Santa)1:400倍稀释4℃封闭过夜,二抗1:5000倍稀释,室温孵育45 min后显色,β-actin为内参。

1.2.3 细胞免疫组织化学: 4%多聚甲醛固定细胞并以0.5% Triton X-100增加细胞膜通透性, 3% H₂O₂室温孵育15 min,山羊血清室温孵育15 min,一抗(Santa公司)1:400倍稀释,4℃过夜,二抗1:200倍稀释,室温孵育30 min,辣根酶标记室温孵育30 min后DAB显色,苏木素复染,镜下观察染色效果。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析,各组检测结果均以mean ± SD表示,数据进行方差齐性检验,若符合正态方差齐性,则应用两独立样本t检验,若不满足则先进行数据转换,使之满足正态方差齐性。P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS诱导人肝内胆管上皮细胞(HIBEpiC)MUC5AC mRNA表达上调 以LPS(1 μg/mL)刺激HIBEpiC, 12 h后检测细胞MUC5AC mRNA表达水平,并将所得Ct值用2^{-ΔΔCt}计算,正常细胞组为1.00 ± 0.05, LPS干预组为3.67 ± 0.22,可见LPS干预组mRNA表达水平明显上调(图2)。

2.2 LPS上调HIBEpiC蛋白表达水平 以LPS(1 μg/mL)刺激HIBEpiC,既往研究报道, LPS干预细胞24 h后,蛋白含量达到峰值^[4], 24 h后应用Western blot及细胞免疫化学方法检测细胞MUC5AC蛋白表达水平,可见LPS干预组蛋白表达水平明显上调(图3, 4)。

■相关报道

本文应用人肝内胆管上皮细胞进行体外干预,研究LPS是否可增加胆道细胞黏蛋白表达。

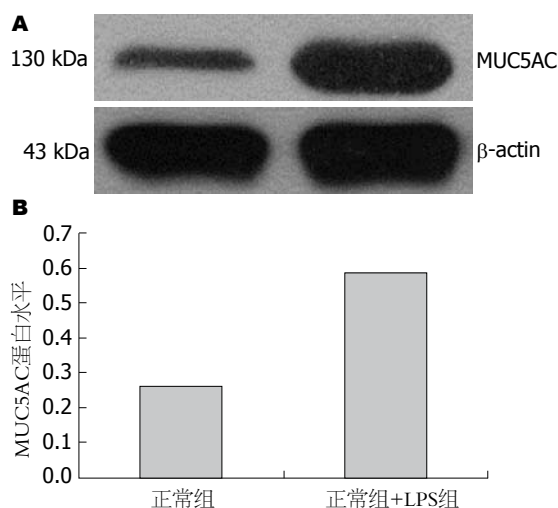


图3 Western blot检测细胞MUC5AC蛋白的表达. A: 电泳发光所见; B: 灰度分析相对比值, 正常细胞组0.26, LPS干预组0.59. LPS: 脂多糖.

3 讨论

肝内胆管结石是目前威胁我国人民群众健康的常见疾病, 治疗方法局限于结石所致萎缩肝段或叶的切除. 在组织学上, 肝胆管结石病中的胆管壁内和胆管周围腺体均呈现明显的伴有炎症和纤维化的增生性病理改变.

细菌LPS是革兰氏阴性菌的内毒素, 位于细胞壁的最外层, 覆盖于细胞壁的黏肽上, 在革兰氏阴性细菌感染及疾病演化中有重要作用, 其毒性成分主要为类脂质A. 正常人胆汁是无菌的, 而在胆石症患者的胆管胆汁中大都可以检出细菌, 且大都是革兰氏阴性菌, 其中最多见的是大肠杆菌, 其次是克雷伯杆菌^[1]. 关于胆石症患者胆汁中细菌的来源目前有以下几种观点, 一种观点认为胆汁中的细菌来源于十二指肠大乳头的逆流, 另一种观点认为胆汁中的细菌是肠道菌群移位进入门静脉从而进入胆汁, 还有人认为肠道菌群可以透过肠壁进入肠道淋巴结从而进入胆道.

黏蛋白广泛分布于机体各组织黏膜上皮表面, 对黏膜起保护和润滑作用, 目前已检测出20余种类型, 分布于机体不同器官, 具有组织学和细胞学特异性. 目前已经报道, 肝内胆管黏膜及周围腺体可表达6种黏蛋白(MUC1、MUC2、MUC3、MUC5AC、MUC5AB、MUC6). 其中MUC5AC是一种分泌型黏蛋白, 其基因位于染色体11p5.5^[5]. 在正常肝内胆管组织中MUC5AC很少表达, 或仅在大胆管黏膜上皮细胞中灶状表达, 但在含结石的肝内胆管中其表达显著增高^[2]. 随着胆汁黏蛋白中MUC5AC含量的增多,

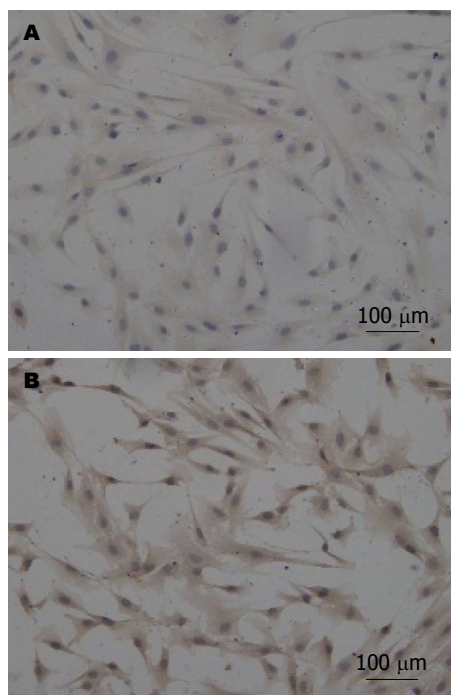


图4 细胞免疫化学方法检测细胞MUC5AC蛋白的表达. A: 正常; B: 正常+LPS. LPS: 脂多糖.

胆汁变黏稠, 研究认为MUC5AC不仅参与的结石成核过程, 同时参与了结石增大的过程^[6-8].

目前关于LPS刺激黏蛋白MUC5AC表达上调的研究大多集中于呼吸道, 另外在胃肠道和鼻上皮中偶有报道^[9,10]. 研究表明黏蛋白的过量表达在肺泡纤维化、支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病的疾病过程中起重要作用. 目前认为, 呼吸道中可能存在EGFR-p38/JNK途径、PKC-NADPH-ROS-TGF- α 途径调节LPS诱导的黏蛋白过表达. 同时, 细胞因子, 如肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-8等也参与了此过程, 导致细胞和组织的损害^[11-15]. 然而, 尽管在临床中可以在胆石症患者胆汁中检测到以大肠杆菌、克雷伯杆菌等为主的革兰氏阴性菌, 也发现胆石症患者胆管上皮黏蛋白MUC5AC表达升高, 但对于细菌刺激与MUC5AC表达上调是否存在因果关系目前在胆道中尚鲜有研究. 由于呼吸道上皮与肝内胆管上皮在胚胎学上具有同源性, 而本研究通过体外细胞培养的方法发现LPS刺激可导致MUC5AC在mRNA和蛋白水平表达均增高, 在胆道中是否存在相同或相似的分子通路或机制, 介导LPS上调黏蛋白MUC5AC的表达, 值得进一步探讨.

总之, LPS可以在体外诱导MUC5AC的高表达, 提示胆石症患者胆汁中细菌感染与黏蛋白

■创新盘点

本文由胆石症患者胆汁中检测到以大肠杆菌、克雷伯杆菌等为主的革兰氏阴性菌, 也发现胆石症患者胆管上皮黏蛋白MUC5AC表达升高这两个临床现象入手, 体外进行LPS干预, 希望能够发现细菌感染与黏蛋白表达升高, 甚至肝内胆管结石之间是否存在因果关系.

■应用要点

LPS可以增加肝内胆管上皮细胞MUC5AC表达, 说明在肝内胆管结石形成过程中, LPS感染可能是一个驱动因素.

■同行评价

本文研究结果将对肝内胆管结石的防止提供新的思路,具有一定指导意义。

MUC5AC表达增高可能存在因果关系,研究LPS诱导MUC5AC高表达的分子机制,可能对肝内胆管结石的防止提供新的思路。

4 参考文献

- 1 Wu SD, Yu H, Sun JM. Bacteriological and electron microscopic examination of primary intrahepatic stones. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 228-231 [PMID: 16698581]
- 2 Kim HJ, Kim SH, Chae GB, Lee SJ, Kang CD. Increased expression of mucin 5AC mRNA and decreased expression of epidermal growth-factor receptor mRNA in gallstone patients. *Tohoku J Exp Med* 2008; 214: 139-144 [PMID: 18285671]
- 3 Yang L, Junmin S, Hong Y, Shuodong W. PGE(2) induces MUC2 and MUC5AC expression in human intrahepatic biliary epithelial cells via EP4/p38MAPK activation. *Ann Hepatol* 2013; 12: 479-486 [PMID: 23619266]
- 4 Wang Y, Shen Y, Li K, Zhang P, Wang G, Gao L, Bai C. Role of matrix metalloproteinase-9 in lipopolysaccharide-induced mucin production in human airway epithelial cells. *Arch Biochem Biophys* 2009; 486: 111-118 [PMID: 19389382 DOI: 10.1016/j.abb.2009.04.006]
- 5 Gosalia N, Leir SH, Harris A. Coordinate regulation of the gel-forming mucin genes at chromosome 11p15.5. *J Biol Chem* 2013; 288: 6717-6725 [PMID: 23303185 DOI: 10.1074/jbc.M112.437400]
- 6 Sasaki M, Nakanuma Y, Kim YS. Expression of apomucins in the intrahepatic biliary tree in hepatolithiasis differs from that in normal liver and extrahepatic biliary obstruction. *Hepatology* 1998; 27: 54-61 [PMID: 9425917]
- 7 Kim YS, Gum J, Brockhausen I. Mucin glycoproteins in neoplasia. *Glycoconj J* 1996; 13: 693-707 [PMID: 8909996]
- 8 Shoda J, Kano M, Asano T, Irimura T, Ueda T, Iwasaki R, Furukawa M, Kamiya J, Nimura Y, Todoroki T, Matsuzaki Y, Tanaka N. Secretory low-molecular-weight phospholipases A2 and their specific receptor in bile ducts of patients with intrahepatic calculi: factors of chronic proliferative cholangitis. *Hepatology* 1999; 29: 1026-1036 [PMID: 10094942]
- 9 Wang W, Xu X, Zheng M, Wan L. Lipopolysaccharides induces MUC5AC overproduction in human nasal epithelium. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270: 541-547 [PMID: 22576247 DOI: 10.1007/s00405-012-2037-0]
- 10 Kim ST, Ye MK, Shin SH. Effects of Asian sand dust on mucin gene expression and activation of nasal polyp epithelial cells. *Am J Rhinol Allergy* 2011; 25: 303-306 [PMID: 22186242 DOI: 10.2500/ajra.2011.25.3627]
- 11 Shen Y, Chen Z, Wang Y, Song Z, Zhang Z, Jin M, Wang X, Bai C. Aquaporin 5 expression inhibited by LPS via p38/JNK signaling pathways in SPC-A1 cells. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 171: 212-217 [PMID: 20362698 DOI: 10.1016/j.resp.2010.03.021]
- 12 Ou XM, Wang BD, Wen FQ, Feng YL, Huang XY, Xiao J. Simvastatin attenuates lipopolysaccharide-induced airway mucus hypersecretion in rats. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 1680-1687 [PMID: 19024099]
- 13 Li W, Yan F, Zhou H, Lin X, Wu Y, Chen C, Zhou N, Chen Z, Li JD, Shen H. P. aeruginosa lipopolysaccharide-induced MUC5AC and CLCA3 expression is partly through Duox1 in vitro and in vivo. *PLoS One* 2013; 8: e63945 [PMID: 23691121 DOI: 10.1371/journal.pone.0063945]
- 14 Silva MA, Bercik P. Macrophages are related to goblet cell hyperplasia and induce MUC5B but not MUC5AC in human bronchus epithelial cells. *Lab Invest* 2012; 92: 937-948 [PMID: 22391959 DOI: 10.1038/labinvest]
- 15 Chand HS, Woldegiorgis Z, Schwalm K, McDonald J, Tesfaigzi Y. Acute inflammation induces insulin-like growth factor-1 to mediate Bcl-2 and Muc5ac expression in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 47: 784-791 [PMID: 22878411 DOI: 10.1165/rcmb.2012-0079OC]

编辑 田滢 电编 闫晋利



原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军, 青岛大学医学院附属医院病理科 山东省青岛市 266003

蒋艳霞, 副主任医师, 主要从事外科病理诊断及消化系统肿瘤的基础及临床研究。

作者贡献分布: 此课题由李玉军与蒋艳霞设计; 研究过程由李玉军、蒋艳霞及于文娟完成; 免疫组织化学部分由李宏完成; 数据处理由于文娟与林东亮完成; 论文写作由蒋艳霞、于文娟及林东亮共同完成。

通讯作者: 李玉军, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院病理科. liyujun.66@163.com
收稿日期: 2013-05-12 修回日期: 2013-07-08
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma

Yan-Xia Jiang, Wen-Juan Yu, Dong-Liang Lin, Hong Li, Yu-Jun Li

Yan-Xia Jiang, Wen-Juan Yu, Dong-Liang Lin, Hong Li, Yu-Jun Li, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Yu-Jun Li, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. liyujun.66@163.com

Received: 2013-05-12 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of EGFR, Connexin43 (Cx43) and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their relationship with clinicopathological characteristics of HCC.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of EGFR, Cx43 and E-cadherin in 74 HCC tissue specimens, 25 liver cirrhosis tissue specimens and 20 normal liver tissue specimens.

RESULTS: The positive rates of EGFR, Cx43 and E-cadherin protein expression were 66.22%, 27.03% and 40.54% in HCC, 44.00%, 68.00% and

52.00% in liver cirrhosis, and 10.00%, 95.00% and 80.00% in normal liver tissues. Expression of EGFR was significantly higher in HCC than in liver cirrhosis ($P < 0.05$) and normal liver tissue (both $P < 0.01$). Expression of Cx43 was significantly lower in HCC than in liver cirrhosis ($P < 0.05$) and normal liver tissue ($P < 0.01$). Expression of E-cadherin differed significantly between HCC and normal liver tissue ($P < 0.01$). Expression of EGFR, Cx43 and E-cadherin was associated with tumor size, differentiation grade, TNM stage, presence of intravascular cancer embolus, capsule involvement and infiltrative growth pattern (all $P < 0.05$), but not with age, gender, cirrhosis background, cancer embolus in the portal vein or serum level of alpha-fetal protein (all $P > 0.05$). In HCC, expression of EGFR was up-regulated, while that of Cx43 and E-cadherin was down-regulated. Expression of EGFR was negatively correlated with expression of Cx43 ($r = -0.3123$, $P = 0.0068$) and E-cadherin ($r = -0.2962$, $P = 0.0104$).

CONCLUSION: Combined detection of EGFR, Cx43 and E-cadherin expression can help reveal the carcinogenic mechanisms of HCC. EGFR, Cx43 and E-cadherin might be used as novel and useful markers for predicting the invasion, metastasis and prognosis of HCC and guiding the clinical therapy of this malignancy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; EGFR; Cx43; E-cadherin; Immunohistochemistry

Jiang YX, Yu WJ, Lin DL, Li H, Li YJ. Significance of expression of EGFR, Connexin43 and E-cadherin in primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2185-2191 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2185>

摘要

目的: 探讨原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中表皮生长因子受体

■背景资料

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤之一,发病率有逐年上升趋势,且死亡率高。HCC发生和演进受多因素影响和多基因控制,本文联合检测EGFR、Connexin43(Cx43)和E-cadherin与HCC的关系,进一步探讨其发生发展、浸润转移机制及预测预后,为临床早期发现HCC和寻求更好的合理有效的基因靶向治疗方法提供理论依据。

■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

■研究前沿

本文联合检测EGFR、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和HCC中表达情况,进一步综合探讨HCC发生机制;HCC 3种蛋白存在异常表达,相应的3个基因可能成为抗肿瘤药物的潜在靶点,有望为HCC的基因治疗找到新的途径。3种蛋白在HCC发生发展中具有反向调节作用,具体作用机制有待进一步明确。

(epidermal growth factor receptor, EGFR)、细胞间隙连接蛋白(connexin43, Cx43)和E-cadherin蛋白的表达及其与临床病理特征的关系。

方法:采用免疫组织化学PV 6000法检测74例原发性HCC, 25例肝硬化组织和20例正常肝组织中EGFR、Cx43和E-cadherin的表达情况。

结果:EGFR、Cx43和E-cadherin HCC组织中阳性率分别为66.22%、27.03%和40.54%, 肝硬化组织阳性率分别为44.00%、68.00%和52.00%, 正常肝组织阳性率分别为10.00%、95.00%和80.00%。EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化和正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.05$, $P<0.01$); Cx43在HCC组织中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.01$, $P<0.01$); E-cadherin在HCC组织中阳性率明显低于正常肝组织阳性率, 差异有显著性($P<0.01$)。EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肿瘤的大小、分化程度、TNM分期、肝内血管癌栓、浸润性生长方式及累及肝被膜具有相关性(均 $P<0.05$), 与患者年龄、性别、是否伴有肝硬化、门静脉癌栓及术前血清甲胎蛋白水平无相关性(均 $P>0.05$)。HCC组织中Cx43和E-cadherin表达降低, EGFR表达增加, EGFR表达和Cx43(rs' = -0.3123, $P = 0.0068$)及E-cadherin(rs' = -0.2962, $P = 0.0104$)间呈负相关性。

结论:联合检测HCC组织中EGFR、Cx43和E-cadherin的表达, 有助于综合探讨HCC的发生机制。EGFR、Cx43和E-cadherin可以作为新的预测HCC浸润、转移、判断预后和指导临床靶向治疗的重要因子。我们的研究为肝癌的基因治疗提供理论依据。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:肝肿瘤; 表皮生长因子受体; Cx43; E-cadherin; 免疫组织化学

核心提示:本文联合检测表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达, EGFR在HCC中呈高表达, 与HCC的分化程度、临床分期、侵袭浸润、转移和判断预后有关; Cx43和E-cadherin在HCC中呈低表达, 与HCC的恶性生物学行为和预后有关。同时检测3种蛋白的表达, 发现他们在HCC发生发展中具有反向调节作用, 三者协同参与HCC的发生和发展。3种

蛋白相应的基因位点, 有望成为HCC新的基因治疗药物的靶点, 为HCC临床基因治疗提供可靠的理论依据。

蒋艳霞, 于文娟, 林东亮, 李宏, 李玉军. 原发性肝细胞癌中EGFR、Connexin43和E-cadherin的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2185-2191 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2185>

0 引言

肿瘤的发生发展和演进是涉及多因素、多步骤和多基因调控的复杂病理过程, 原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床常见的恶性肿瘤, 其死亡率占恶性肿瘤的第2位^[1], 其发生和演进亦受多因素影响和多基因调控, 为进一步探讨其发生、浸润和转移机制, 寻求更好的合理有效的治疗方法选做本实验。本研究采用免疫组织化学技术, 观察表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、细胞间隙连接蛋白(connexin43, Cx43)和E-cadherin蛋白在HCC组织中的表达及其与HCC的发生机制、作用靶点、临床病理特征、浸润和转移的关系, 为临床采用新思路诊断治疗HCC提供一定的理论支持。

1 材料和方法

1.1 材料 收集青岛大学医学院附属医院手术切除存档蜡块标本, 经病理科确诊的原发性HCC 74例, 术前均未行放化疗。其中男56例, 女18例; 年龄35-79岁, 中位54.4岁; 每例均有详细的临床资料及手术记录。按国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)制定的HCC TNM分期标准: I期25例、II期19例、III期22例、IV期8例; 病理学分级按WHO分级法划分为4型^[2], 即高分化、中分化、低分化和未分化。其中高分化(I级)14例、中分化(II级)34例、低分化(III级)26例; 瘤结节直径2.5-12.0 cm, 肿瘤直径 ≤ 5 cm 46例, 肿瘤直径 > 5 cm 28例; 伴有肝硬化背景63例, 无肝硬化背景11例。经临床检查及手术记录发现有门静脉癌栓8例, 无癌栓66例。经病理镜下观察并免疫组织化学证实有血管内癌栓33例, 无血管内癌栓41例; 浸润性生长方式53例, 膨胀性生长方式21例; 累及肝被膜56例, 未累及肝被膜18例。术前检测血液中甲胎蛋白(alpha-fetal protein, AFP)含量, ≤ 400 $\mu\text{g/L}$ 53例, > 400 $\mu\text{g/L}$ 21例。取25例肝硬化组织; 另取20例正常肝组织(肝内良性病变手术患

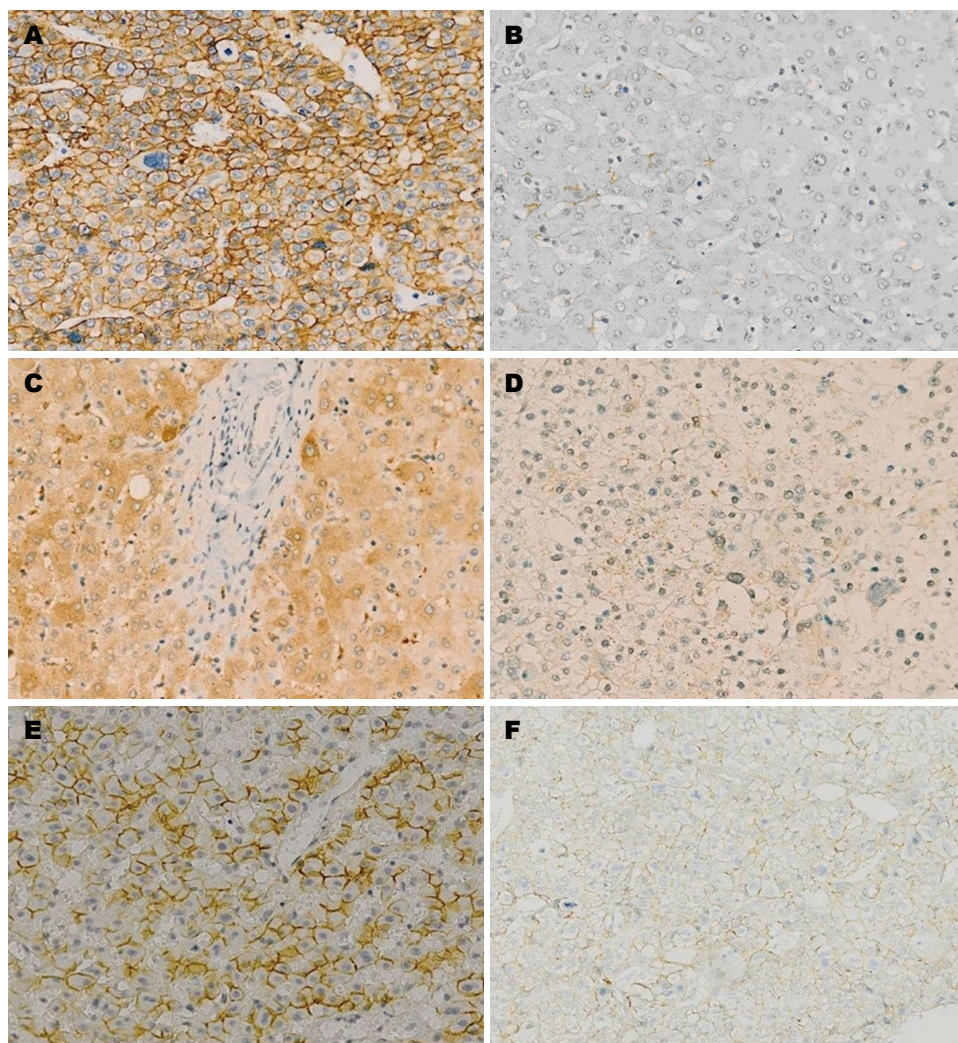


图1 EGFR、Cx43及E-cadherin在HCC及正常肝组织中的表达(PV6000法 $\times 200$). A: HCC(低分化)EGFR细胞膜/细胞质弥漫强阳性表达; B: 正常肝组织EGFR细胞膜/细胞质散在弱阳性表达; C: 正常肝组织Cx43细胞质颗粒状弥漫强阳性表达; D: HCC(低分化)Cx43细胞质颗粒状弱阳性表达; E: 正常肝组织E-cadherin细胞膜/细胞质弥漫强阳性表达; F: HCC(低分化)E-cadherin细胞膜/细胞质强阳性表达. HCC: 原发性肝细胞癌; EGFR: 表皮生长因子受体.

■ 相关报道

Laskin等研究EGFR在多种肿瘤中呈高表达, 可作为肿瘤治疗的一个新的靶点. Berasain等研究HCC中针对阻断EGFR的靶向治疗药物已经应用于临床试验Ⅱ和Ⅲ期, 并取得较好的疗效.

者周边的正常肝组织)作为对照.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 所有标本均经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μ m厚切片. 采用免疫组织化学PV 6000法染色, 具体步骤严格按说明书操作. EGFR和E-cadherin抗体均为鼠抗人单克隆抗体(即用型); Cx43抗体为兔抗人多克隆抗体(即用型), 购自北京中杉公司; PV 6000通用型试剂盒购自Zymed公司, 并设阴性及阳性对照.

1.2.2 结果判断: 采用双盲法, 由两位有经验的高年资病理医师共同进行. EGFR、Cx43和E-cadherin阳性表达均表现为棕黄色颗粒状. EGFR和E-cadherin主要定位于细胞膜, 少量定位于细胞质, Cx43定位于细胞质. 根据阳性细胞染色范围(面积: $\leq 4\%$ 为0分, 5%-24%为1分, 25%-49%为2分, 50%-74%为3分, $\geq 75\%$ 为4分)和染色强度

(根据染色强弱分为0分、1分、2分、3分)乘积进行计分并进行结果判断: 0-3分为阴性(-), 4-8分为阳性(+), 9-12分为强阳性(++).

统计学处理 采用JMTJFX简明统计分析13.0, 应用 χ^2 检验和Spearman等级相关性分析, 若 χ^2 检验条件不符合则采用确切概率法. 以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 为差异有显著性, 具有统计学意义.

2 结果

2.1 EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC、肝硬化及正常肝组织中的表达 EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC及正常肝组织中的表达(图1): EGFR在HCC组织中呈强阳性表达(图1A), 正常肝组织中呈弱阳性表达(图1B); Cx43在正常肝组织中呈强阳性表达(图1C), HCC组织中呈弱阳性表达(图1D). E-cadherin在正常肝组织中呈

■ 创新盘点

本文联合检测EGFR、Cx43和E-cadherin在正常肝组织、肝硬化组织和HCC中表达情况,进一步探讨HCC发生和演进过程,寻求基因靶向治疗的新位点。3种蛋白在HCC发生发展中具有反向调节作用及其与肝硬化发病机制的相关性,目前尚未见报道。

表 1 EGFR、Cx43和E-cadherin在肝细胞癌中的表达

分组	n	EGFR			Cx43			E-cadherin		
		-	+++	P值	-	+++	P值	-	+++	P值
HCC	74	25	49	<0.05 ^a	54	20	<0.01 ^a	44	30	>0.05 ^a
肝硬化组织	25	14	11	<0.05 ^c	8	17	>0.05 ^c	12	13	>0.05 ^c
正常肝组织	20	18	2	<0.01 ^b	1	19	<0.01 ^b	4	16	<0.01 ^b

^a $P < 0.05$ vs 肝硬化组织; ^b $P < 0.05$ vs 正常肝组织; ^c $P < 0.01$ vs HCC. HCC: 原发性肝细胞癌. EGFR: 表皮生长因子受体.

强阳性表达(图1E), HCC组织中呈弱阳性表达(图1F).

EGFR、Cx43和E-cadherin在HCC、肝硬化及正常肝组织中阳性表达不同(表1). EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 差异有显著性($P < 0.05$, $P < 0.01$); Cx43在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 差异有显著性($P < 0.01$, $P < 0.01$); E-cadherin在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织中阳性率, 与正常肝组织间差异有显著性($P < 0.01$).

2.2 EGFR、Cx43和E-cadherin表达与HCC临床病理特征的关系 EGFR阳性率随着肿瘤分化程度降低表达升高(42.86%、64.71%、80.77%), 低分化HCC阳性率明显高于高分化, 差异有显著性($P < 0.05$). Cx43在HCC中随着肿瘤分化程度降低阳性率降低(57.14%、23.53%、15.38%), 高分化HCC Cx43阳性率明显高于低分化, 差异有显著性($P < 0.05$); E-cadherin在HCC中随着肿瘤分化程度降低阳性率降低(64.29%、47.06%、19.23%), 高分化与低分化间差异有显著性($P < 0.05$), 中分化与低分化间差异有显著性($P < 0.05$). EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肿瘤大小, TNM分期, 血管内癌栓, 浸润性生长方式和是否累及肝被膜间有相关性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与患者年龄、性别、有无伴肝硬化背景、门静脉癌栓、术前血清AFP水平均无相关性(均 $P > 0.05$, 表2).

2.3 EGFR和Cx43、E-cadherin在HCC中表达的相互关系 本组研究结果显示, 在HCC中EGFR表达增加, Cx43和E-cadherin表达减少, 经Spearman等级相关性分析, EGFR和Cx43、E-cadherin表达间呈负相关性($rs' = -0.3123$, $P = 0.0068$; $rs' = -0.2962$, $P = 0.0104$, 表3).

3 讨论

EGFR是生长因子受体家族的重要成员之一, 广

泛表达于人体血管组织和多种正常细胞表面, 如上皮细胞、肝细胞、成纤维细胞、神经胶质细胞等^[3]. 在多种上皮来源的恶性肿瘤, 如乳腺癌、胃癌、前列腺癌、非小细胞肺癌等细胞表面都有异常表达^[4], 而且与肿瘤的组织学类型和侵袭力有关.

EGFR与HCC的关系目前尚未明确, 其作用机制可能为: (1)肝癌细胞可以通过自分泌EGF, 直接作用于细胞膜上的EGFR, 加速肿瘤细胞无抑制性生长; (2)EGFR的氨基酸排列和组成与某些癌基因的产物具有高度同源性, 使EGFR不依赖于EGF也能被激活, 受体的持续性激活可导致细胞不断性生长, 可能导致细胞恶性转化; (3)HCC组织中EGFR过表达, 加速肿瘤细胞生长. EGFR可能主要通过Ras/Raf/MEK/ERK/MAPK信号通路传递信号参与调节肝癌细胞的增殖与分化^[5], 使肿瘤细胞过度增殖和表型恶性转化, 促进HCC的发生和发展.

本实验结果显示, EGFR在HCC组织中阳性率明显高于肝硬化组织与正常肝组织, 并且随着肿瘤分化程度降低, 恶性程度增高, 阳性率增加. EGFR高表达与HCC TNM分期、瘤体大小、伴有血管内癌栓、浸润性生长方式和累及肝被膜间有关. 该结果提示: EGFR高表达可能参与HCC的恶性转化, 与HCC的恶性程度、侵袭和转移有密切关系, 可作为判断HCC预后不良的一项重要指标.

目前研究发现: EGFR在多种实体瘤中均可呈高表达, 已经作为肿瘤治疗的一个新的靶点^[6]. 在HCC中, 针对阻断EGFR的靶向治疗药物(抗EGFR单克隆抗体和小分子EGFR酪氨酸激酶抑制剂)已经应用于HCC临床试验II期和III期, 并取得一定的疗效^[7]. 联合应用gemcitabine加oxaliplatin和erlotinib药物对控制晚期HCC患者疾病的进展有一定疗效, 并能适当延长患者无进展生存期^[8].

Cx是存在于细胞间负责物质及信息交换的

表 2 EGFR、Cx43和E-cadherin表达与肝细胞癌临床病理特征的关系

临床病理特征	n	EGFR			Cx43			E-cadherin		
		-	+++	P值	-	+++	P值	-	+++	P值
性别				>0.05						>0.05
男	56	19	37		38	18	>0.05	34	22	
女	18	6	12		16	2		10	8	
年龄(岁)				>0.05						>0.05
≤50	26	12	14		20	6	>0.05	17	9	
>50	48	13	35		34	14		27	21	
分化程度										
高分化	14	8	6	<0.05 ^a	6	8	<0.05 ^a	5	9	<0.05 ^a
中分化	34	12	22	>0.05 ^c	26	8	>0.05 ^c	18	16	>0.05 ^c
低分化	26	5	21	>0.05 ^e	22	4	>0.05 ^e	21	5	<0.05 ^e
TNM分期				<0.05						<0.05
I-II	44	19	25		28	16	<0.05	23	21	
III-IV	30	6	24		26	4		24	6	
肝硬化				>0.05						>0.05
有	63	20	43		48	15	>0.05	37	26	
无	11	5	6		6	5		6	5	
瘤体直径(cm)				<0.05						<0.01
≤5	46	20	26		29	17	<0.05	21	25	
>5	28	5	23		25	3		23	5	
血管内癌栓				<0.05						<0.05
有	33	5	28		28	5	<0.05	24	9	
无	41	20	21		26	15		20	21	
门静脉癌栓				>0.05						>0.05
有	8	3	5		5	3	>0.05	4	4	
无	66	22	44		49	17		40	26	
术前AFP(μg/L)				>0.05						>0.05
≤400	53	20	33		36	17	>0.05	33	20	
>400	21	5	16		18	3		11	10	
生长方式				<0.05						<0.01
浸润性	53	14	39		44	9	<0.01	38	15	
膨胀性	21	11	10		10	11		6	15	
累及肝被膜				<0.01						<0.01
累及	56	13	43		47	9	<0.01	40	16	
未累及	18	12	6		7	11		4	14	

^aP<0.05 vs 低分化; ^cP<0.05 vs 高分化; ^eP<0.05 vs 中分化. EGFR: 表皮生长因子受体; AFP: 甲胎蛋白; Cx: 细胞间隙连接蛋白.

应用要点

检测HCC中3种蛋白的表达,可以预测HCC的恶性生物学行为和判断预后. 阻断EGFR基因的靶向治疗药物已经应用于临床试验,并取得较好的效果;针对Cx43和E-cadherin基因治疗有望成为新的靶向治疗位点.

通道蛋白, 其正常表达对细胞增殖、分化、凋亡及机体的生长发育至关重要. 这种由间隙连接(gap junction, GJ)介导的细胞间物质、能量及信息的交换活动称为间隙连接细胞间通讯(gap junction intercellular communication, GJIC). Cx属于多基因家族, Cx43是间隙连接家族中分布最广的分子, 对组织细胞具有生长调控的作用, 连接蛋白基因水平升高可促进间隙连接的组装, 增加细胞间信号的交流, 使细胞之间的生长相互控制^[9]. 近年来研究表明, Cx43表达异常(减少或缺失)与多种肿瘤的发生、发展及转移密切相

关^[10], 而表达异常主要是表达水平的下调, 而非基因的丢失或突变^[11].

本研究结果显示, Cx43蛋白在正常肝组织、肝硬化和HCC中阳性率逐渐降低, HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织, 与二者间比较有统计学意义; Cx43阳性表达随着HCC的分化程度降低, 恶性程度增高, 阳性率降低, 且与肿瘤大小、TNM分期及伴有血管内癌栓、浸润性生长方式和累及肝被膜有关. 本研究结果与以往报道有一致性^[12], Cx43表达与HCC的浸润性生长方式和是否累及肝被膜间的关系尚

■同行评价

本文选题新颖, 研究方法科学, 结果可靠, 对临床肝癌的防治有重要的指导意义。

表 3 肝细胞癌组织中EGFR和Cx43、E-cadherin表达的相关性分析 ($n = 74$)

		Cx43				E-cadherin			
		-	+	++	rs'	-	+	++	rs'
EGFR	-	14	4	7	-0.3123	12	3	10	-0.2962
	+	18	4	2		12	8	3	
	++	22	2	1		20	4	2	

$P = 0.0068$, $P < 0.01$ vs Cx43; $P = 0.0104$, $P < 0.05$ vs E-cadherin. EGFR: 表皮生长因子受体。

未见报道。HCC中Cx43表达降低, 提示癌细胞GJIC异常, 机体对细胞的监视和调控能力减弱, 使细胞之间的生长相互控制减弱, 促进细胞过度克隆生长, 同时细胞凋亡功能减弱, 可导致肿瘤的发生和发展; GJIC功能降低, 影响细胞间的黏附, 黏附机制减弱, 使细胞彼此分离, 是导致肿瘤细胞浸润和转移的重要机制之一。Lin等^[9]研究结果支持这一观点。针对HCC组织中Cx43表达减少, 提示Cx43可能成为抗肿瘤药物的潜在靶点, 提高癌组织中Cx43表达, 恢复GJIC功能, 抑制癌细胞的增殖, 降低癌细胞侵袭和转移, 有望为HCC的基因靶向治疗找到一条新的途径。

E-cadherin是一种钙离子依赖性细胞间黏附分子, 是调节细胞与细胞之间, 细胞与基质之间黏附反应的重要媒介, 对维持细胞的形态和极性、组织结构的完整性有重要作用^[13]。E-cadherin在结肠癌、泌尿系统肿瘤、口腔上皮癌等多种肿瘤中呈低表达或表达缺失, 与多种肿瘤的发生发展和浸润转移及预后有关^[14,15]。E-cadherin表达下降或缺失, 一方面, 可使肿瘤细胞间黏附力下降, 细胞间接触抑制功能下降, 促使细胞增殖增加, 同时还能抑制细胞凋亡; 另一方面, 肿瘤细胞容易离散而呈浸润性生长, 促进肿瘤扩散和转移, 而且可以诱导上皮细胞向间质细胞转化, 增强肿瘤细胞的侵袭力和抗凋亡能力^[16]。

本研究中, E-cadherin蛋白在HCC中阳性率明显低于肝硬化和正常肝组织, 随着HCC分化程度降低, 恶性程度升高, 表达减少; 且与肿瘤大小、TNM分期, 伴有血管内癌栓、累及肝被膜和浸润性生长方式有关, 且随着肿瘤临床病程进展, 侵袭性加强, E-cadherin表达下降。该结果同Armeanu-Ebinger等^[17]研究基本一致。HCC中E-cadherin表达下降, 肿瘤细胞间黏附力下降, 细胞接触抑制功能减弱, 促进细胞增殖, 导致HCC发生, 同时肿瘤细胞获得高侵袭性, 促进肝癌细胞扩散和转移。E-cadherin异常表达与HCC

的恶性生物学行为密切相关, 表达减弱可促进癌细胞的浸润和转移, 提示E-cadherin是反映HCC恶性生物学行为和预后的重要标志物。

本研究显示, HCC组织中, EGFR表达增加, Cx43和E-cadherin表达减少, EGFR与Cx43、E-cadherin在HCC发生发展中具有反向调节作用, 三者协同作用共同参与HCC的发生和演进过程。

EGFR和Cx43在HCC中具有反向调节作用, 王凤翔等^[18]研究EGF对人视网膜色素上皮细胞间通讯功能和Cx43表达关系的影响发现, 经EGF处理后的人视网膜色素上皮细胞Cx43表达明显降低, 并且与EGF的浓度呈正相关性。该结果提示, EGF可以降低细胞间连接通讯功能, 减少Cx43蛋白的表达, 降低细胞间接触抑制, 刺激细胞的生长; 而EGF发挥其功能必须通过与其受体(EGFR)结合才能完成, 则EGFR的表达可以影响EGF的功能。本实验结果表明, HCC组织中EGFR高表达, Cx43低表达, 高表达的EGFR可以通过EGF作用, 使Cx43蛋白在HCC组织中表达下调, 降低肝癌细胞间缝隙连接功能, 降低细胞间接触性抑制, 刺激细胞过度增殖分化, 降低细胞的凋亡, 促进HCC的发生和发展。

EGFR和E-cadherin在HCC组织中表达具有负相关性, 其具体作用机制尚不清楚。Jones等^[19]对乳腺癌中EGFR和E-cadherin表达关系的研究发现, E-cadherin表达下降与EGFR表达呈明显相关性, 在细胞水平上, EGFR和E-cadherin共存于细胞间的粘着小带处, 并与 β -catenin相连, 当EGFR结合配体, 受体自身酪氨酸磷酸化, 使得E-cadherin从肌动蛋白丝上解离下来, 使细胞的黏附功能破坏, 促进肿瘤细胞的生长与转移。

肝硬化是一个长期持续慢性肝损伤后的复杂病理过程, 导致肝硬化的原因很多, 在我国最重要的原因是病毒性肝炎, 尤其是乙型肝炎和丙型肝炎。但肝硬化的发生发展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 受多方面因素的影响,

本实验结果显示, 肝硬化增生结节内EGFR阳性率明显高于正常肝组织, 二者间有显著性差异 ($P<0.01$), 提示EGFR可能参与了肝硬化的发病过程; 且伴有肝硬化背景组(68.25%)HCC组织中EGFR阳性率高于无肝硬化背景组(54.55%), 提示EGFR可能参与了肝硬化向HCC转化的过程, 并与肝硬化最终发展成为HCC的过程有一定的相关性. 而Cx43、E-cadherin在肝硬化组织中阳性率低于正常肝组织, 同时发现伴有肝硬化背景组HCC组织中Cx43、E-cadherin阳性率低于无肝硬化背景组, 提示Cx43、E-cadherin缺失可能参与了肝硬化的发病过程, 且在肝硬化向HCC转化过程中发挥一定的作用, 其之间详细的作用机制尚未见报道, 有待于进一步探讨.

4 参考文献

- 1 汤钊猷. 从肝癌看癌症临床研究. 肿瘤 2009; 29: 1-4
- 2 Bosman F H, Carneiro F, Hruban R H. WHO classification of tumors of the digestive system. 4th ed, Lyon: IARC, 2010: 196-261
- 3 Sako Y, Minoguchi S, Yanagida T. Single-molecule imaging of EGFR signalling on the surface of living cells. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 168-172 [PMID: 10707088 DOI: 10.1038/35004044]
- 4 朱严冰, 张怡梅, 耿淑美. 表皮生长因子及受体与肿瘤的研究进展. 临床误诊误治 2006; 19: 17-19
- 5 Okano J, Nagahara T, Matsumoto K, Murawaki Y. Caffeine inhibits the proliferation of liver cancer cells and activates the MEK/ERK/EGFR signalling pathway. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102: 543-551 [PMID: 18346049 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2008.00231.x]
- 6 Laskin JJ, Sandler AB. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumours. *Cancer Treat Rev* 2004; 30: 1-17 [PMID: 14766123 DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.10.002]
- 7 Berasain C, Perugorria MJ, Latasa MU, Castillo J, Goñi S, Santamaría M, Prieto J, Avila MA. The epidermal growth factor receptor: a link between inflammation and liver cancer. *Exp Biol Med* (Maywood) 2009; 234: 713-725 [PMID: 19429859 DOI: 10.3181/0901-MR-12]
- 8 Asnacios A, Fartoux L, Romano O, Tesmoingt C, Louafi S S, Mansoubakht T, Artru P, Poynard T, Rosmorduc O, Hebbat M, Taieb J. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) combined with cetuximab in patients with progressive advanced stage hepatocellular carcinoma: results of a multicenter phase 2 study. *Cancer* 2008; 112: 2733-2739 [PMID: 18412149 DOI: 10.1002/cncr.23489]
- 9 Lin FL, Chang CI, Chuang KP, Wang CY, Liu HJ. Advanced glycation end products down-regulate gap junctions in human hepatoma SKHep 1 cells via the activation of Src-dependent ERK1/2 and JNK/SAPK/AP1 signaling pathways. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 8636-8642 [PMID: 20681653 DOI: 10.1021/jf904240c]
- 10 Chen JT, Cheng YW, Chou MC, Sen-Lin T, Lai WW, Ho WL, Lee H. The correlation between aberrant connexin 43 mRNA expression induced by promoter methylation and nodal micrometastasis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4200-4204 [PMID: 14519646]
- 11 Krutovskikh VA, Troyanovsky SM, Piccoli C, Tsuda H, Asamoto M, Yamasaki H. Differential effect of subcellular localization of communication impairing gap junction protein connexin43 on tumor cell growth in vivo. *Oncogene* 2000; 19: 505-513 [PMID: 10698520 DOI: 10.1038/sj.onc.1203340]
- 12 王海琴, 霍继荣, 胡继雄, 王赛. Cx43基因在肝细胞癌中的表达及意义. 中国老年学杂志 2008; 28: 35-36
- 13 Birchmeier W, Behrens J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1198: 11-26 [PMID: 8199193 DOI: 10.1016/0304-419X(94)90003-5]
- 14 Pyo SW, Hashimoto M, Kim YS, Kim CH, Lee SH, Johnson KR, Wheelock MJ, Park JU. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. *J Craniomaxillofac Surg* 2007; 35: 1-9 [PMID: 17296306 DOI: 10.1016/j.jcms.2006.11.004]
- 15 Lascombe I, Clairotte A, Fauconnet S, Bernardini S, Wallerand H, Kantelip B, Bittard H. N-cadherin as a novel prognostic marker of progression in superficial urothelial tumors. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2780-2787 [PMID: 16675571 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2387]
- 16 Onder TT, Gupta PB, Mani SA, Yang J, Lander ES, Weinberg RA. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res* 2008; 68: 3645-3654 [PMID: 18483246 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2938]
- 17 Armeanu-Ebinger S, Wenz J, Seitz G, Leuschner I, Handgretinger R, Mau-Holzmann UA, Bonin M, Sipos B, Fuchs J, Warmann SW. Characterisation of the cell line HC-AFW1 derived from a pediatric hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e38223 [PMID: 22666492 DOI: 10.1371/journal.pone.0038223]
- 18 王凤翔, 何守志, 顾峥, 陈兵. EGFR对人视网膜色素上皮细胞胞间通讯功能和Cx43表达的影响. 眼科新进展 2005; 25: 301-303
- 19 Jones JL, Royall JE, Walker RA. E-cadherin relates to EGFR expression and lymph node metastasis in primary breast carcinoma. *Br J Cancer* 1996; 74: 1237-1241 [PMID: 8883410 DOI: 10.1038/bjc.1996.522]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



抗TNF α 单链抗体复制缺陷型腺病毒载体的构建及表达

卓萌, 唐余燕, 余永胜, 周丽芹, 潘庆春, 王鹏, 臧国庆, 汤正好

■背景资料

重型肝炎是病毒性肝炎中病死率极高的一种临床类型, 主要病理特点为急剧发生的大面积肝细胞坏死, 预后极差。目前, 重型肝炎的治疗尚无特效方法, 而常规内科治疗病死率极高, 达70%以上。因此, 研究和探索一种有效和实用的治疗重型肝炎的新方法是目前亟待解决的问题。

卓萌, 唐余燕, 余永胜, 周丽芹, 潘庆春, 王鹏, 臧国庆, 汤正好, 上海交通大学附属第六人民医院感染病科 上海市200233

卓萌, 硕士, 主要从事病毒性肝炎的基础与临床研究。

上海市科委医学引导类基金资助项目, No. 114119a1200

作者贡献分布: 实验设计及论文修改由汤正好完成; 研究过程由卓萌操作, 唐余燕与周丽芹协助完成; 本实验由臧国庆、余永胜、潘庆春及王鹏指导完成; 本论文写作由卓萌完成。

通讯作者: 汤正好, 主任医师, 博士生导师, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属上海市第六人民医院感染病科。tzhhao@163.com

电话: 021-64369181-58673

收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-05-27

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Construction and identification of recombinant replication-defective adenovirus vector Ad/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv

Meng Zhuo, Yu-Yan Tang, Yong-Sheng Yu, Li-Qin Zhou, Qing-Chun Pan, Peng Wang, Guo-Qing Zang, Zheng-Hao Tang

Meng Zhuo, Yu-Yan Tang, Yong-Sheng Yu, Li-Qin Zhou, Qing-Chun Pan, Peng Wang, Guo-Qing Zang, Zheng-Hao Tang, Department of Infectious Diseases, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shanghai, No. 114119a1200

Correspondence to: Zheng-Hao Tang, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. tzhhao@163.com

Received: 2013-04-07 Revised: 2013-05-27

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To construct a recombinant replication-defective adenovirus vector carrying TNF α -scFv and to obtain high-purity virus solution by viral packaging, purification and titration.

METHODS: The TNF α -scFv gene was amplified from the PUC57-Amp vector and cloned into the shuttle plasmid pDONR221. The resulting pDONR221-TNF α -scFv was identified by DNA sequencing and then co-transfected into bacteria carrying the adenoviral backbone plasmid pAd-CMV-V5-DEST to generate an adenoviral plasmid carrying TNF α -scFv (pAd/CMV/V5-

DEST-TNF α -ScFv) by homologous recombination in bacteria. After the pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -ScFv vector was transfected into 293 cells, the transfected 293 cells were infected with adenoviruses. The expression of TNF α -ScFv was detected by cytopathic effect and Western blot.

RESULTS: PCR amplification, restriction analysis and DNA sequencing verified that both the recombinant shuttle plasmid pDONR221-TNF α -scFv and the recombinant adenovirus vector pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv were correctly constructed. After amplification and purification, the titer of recombinant adenovirus was 2.5×10^{11} TCID₅₀/mL after proliferation in 293 cells. Western blot analysis demonstrated that TNF α -scFv was expressed efficiently in 293 cells after infection.

CONCLUSION: The recombinant adenovirus vector Ad/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv has been successfully constructed, which lays a foundation for further study of gene function and therapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Tumor necrosis factor- α ; TNF α -scFv; Replication-defective adenovirus vector

Zhuo M, Tang YY, Yu YS, Zhou LQ, Pan QC, Wang P, Zang GQ, Tang ZH. Construction and identification of recombinant replication-defective adenovirus vector Ad/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2192-2197 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2192.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2192>

摘要

目的: 构建pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv重组腺病毒载体, 通过病毒包装、纯化及滴定, 获得高纯度高感染性的病毒液, 并对TNF α -scFv进行表达、鉴定。

方法: 以携带TNF α -scFv基因的载体PUC57-Amp为模板, 扩增TNF α -scFv目的基因, 构建穿梭质粒pDONR221-TNF α -scFv, 测序证实质粒含有目的基因。与骨架质粒pAd-CMV-V5-

■同行评议者
周陶友, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

DEST腺病毒骨架载体进行同源重组, 形成表达克隆pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv. 表达克隆转染293细胞, 包装重组腺病毒, 并鉴定和病毒滴定.

结果: TNF α -scFv基因成功克隆到腺病毒载体中, 转染293细胞后成功包装出重组腺病毒, 病毒滴度为 2.5×10^{11} TCID₅₀/mL, Western blot检测到TNF α -scFv基因在293细胞中高水平表达.

结论: 成功构建了带有TNF α -scFv基因的重组腺病毒载体, 为进一步研究提供实验基础.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肿瘤坏死因子 α ; 抗TNF α 单链抗体; 复制缺陷型腺病毒载体

核心提示: 以TNF α 为核心的炎症反应, 在重型肝炎患者肝细胞继发性损伤中的作用早已引起人们高度重视. 近年来, scFv已越来越多地被研究和应用于医学的各个领域, 为多种疾病的诊断、治疗和预防提供基础. 本研究成功构建pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv重组腺病毒, 可在一定程度上阻止TNF α 引起的重型肝炎, 旨在为重型肝炎的治疗提供一种新的方法和实验基础.

卓萌, 唐余燕, 余永胜, 周丽芹, 潘庆春, 王鹏, 臧国庆, 汤正好. 抗TNF α 单链抗体复制缺陷型腺病毒载体的构建及表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2192-2197 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2192.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2192>

0 引言

肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)属于TNF家族, 主要由巨噬细胞和活化的T细胞分泌产生. 近年来研究发现, TNF α 在许多炎症性疾病、恶性肿瘤和自身免疫性疾病的发生发展过程中起着非常重要的作用^[1,2]. TNF α 作为一种多效细胞因子, 在维持肝脏组织稳态中起着举足轻重作用. 已有研究^[3,4]证实, 在重型肝炎患者血清中TNF α 含量明显升高, 且与病情轻重呈正相关, 提示TNF α 参与了重型肝炎的发病过程. 其机制为高浓度的TNF α 可作用于肝细胞表面的肿瘤坏死因子受体(TNF receptor, TNFR), 引起大量肝细胞炎性坏死^[5]. 鉴于高浓度TNF α 对机体的有害作用, 多年来人们一直致力于研制与开发能够阻断TNF α 效应的生物制剂^[6-10]. 其中包括单链抗体(single chain variable fragment,

scFv), scFv是利用基因工程原理将抗体的轻链(VL)和重链(VH)可变区片段(Fv)用一条较短的连接肽(linker)连接在一起的小分子抗体. 近年来, scFv已越来越多地被研究和应用于医学的各个领域, 尤其是肿瘤、艾滋病等疾病的诊断、治疗和预防^[11-14]. 为探讨抗TNF α 的生物制剂对机体的保护作用, 本实验构建了抗TNF α 单链抗体复制缺陷型腺病毒载体, 为开展重型肝炎的基因治疗提供实验基础.

1 材料和方法

1.1 材料 带有TNF α -scFv目的基因载体pUC57-Amp由上海瑞赛公司提供; 中间载体pDONR221、腺病毒表达载体pAd/CMV/V5-DEST和包装细胞株293购自加拿大Mixcrobox-Biosystems公司; Taq酶为美国Invitrogen公司产品; 限制性内切酶、DNA连接酶为加拿大Fermentas公司产品; 质粒抽提试剂盒、基因组DNA抽提试剂盒为Axygen公司产品; 蛋白提取试剂盒为美国Bio-Rad公司产品; *Pac* I酶为美国NEB公司产品; 感受态大肠杆菌DH5 α 购自美国Stratagene公司; 细胞培养基DMEM、胎牛血清FBS为美国Gibco公司产品.

1.2 方法

1.2.1 目的基因的扩增: 参照TNF α -scFv基因片段序列, 设计BP重组引物, 上下游引物的5'端分别加上ATTB1和ATTB2重组序列, 引物序列如下. 下划线标记分别为ATTB1和ATTB2重组序列. TNF α -scFv-ATTB1: 5'-GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTTCGCCACCATGC-CATCTTCTGTCTCGTG-3' TNF α -scFv-ATTB2: 5'-GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTCTTACTTGTTCATCGTCATCCTTGTA-ATC-3', 以携带TNF α -scFv基因的载体PUC57-Amp为模板, TNF α -scFv-ATTB1/ TNF α -scFv-ATTB2为引物, PCR扩增TNF α -scFv基因片段, 使目的片段两端分别带上ATTB1和ATTB2序列. PCR反应参数为: 95 °C预变性3 min, 再进行30个PCR循环(94 °C 30 s, 57 °C 30 s, 68 °C 90 s), 最后68 °C延伸10 min. 1%琼脂糖凝胶电泳分离PCR产物, 并回收目的片段.

1.2.2 腺病毒穿梭质粒pDONR221-TNF α -scFv和骨架质粒pAd/CMV/V5-DEST同源重组构建pAd-TNF α -scFv: 将目的片段TNF α -scFv重组到中间载体pDONR221上, 转化大肠杆菌DH5 α 感受态细胞, 挑选阳性克隆, 以菌液为模

■ 研发前沿

为探讨抗TNF α 的生物制剂对重型肝炎机体的保护作用, 本研究选用目前广泛应用的第二代复制缺陷型病毒, 通过病毒包装、纯化及滴定, 成功获得了较高滴度的pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv重组腺病毒.

■ 相关报道

Fong等研究表明, 有效地阻断机体早期快速释放的TNF α , 可显著地抑制机体内其他一些炎性介质(如IL-1和IL-6)的进一步释放, 从而有效地阻止疾病的进展. 在重型肝炎患者血清中TNF α 含量也明显升高, 且与病情轻重呈正相关, 提示TNF α 参与了重型肝炎的发病过程.

■创新盘点

利用非复制型腺病毒载体构建抗TNF α -ScFv的真核表达载体,介导抗TNF α -ScFv表达,提高目的基因的表达效率,并增加了应用的安全性;将抗TNF α -ScFv研究与临床应用相结合,研究其阻断内毒素诱导的肝细胞坏死作用,以探索治疗重型肝炎、肝衰竭的新方法。

板, TNF α -scFv-ATTB1/TNF α -scFv-ATTB2为引物进行菌落PCR, 将鉴定呈阳性的克隆接到LB液体培养基中, 摇菌过夜, 次日抽提质粒, 分别进行聚合酶链反应及测序鉴定。将测序正确的pDONR221-TNF α -scFv穿梭质粒上携带的目的片段, 在LR克隆II混合物作用下, 重组到骨架质粒pAd/CMV/V5-DEST上(目的基因在重组位点attR1和attR2之间), PCR参数为: 94 °C 预变性 3 min, 再进行35个PCR循环(94 °C 30 s, 57 °C 30 s, 72 °C 90 s), 最后72 °C 延伸5 min。取测序正确的携带目的基因的腺病毒载体菌液, 用含氨苄青霉素LB琼脂选择性平板筛选。挑取平板上生长的单克隆, 增殖细菌, 提取质粒。Thermo Nano-Drop测定质粒浓度。

1.2.3 重组腺病毒TNF α -scFv的包装: 转染前1 d, 在6孔板内接入 5×10^5 个293细胞, 至转染时细胞融合度约50%-60%。取质粒pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv 3.2 μ g用Pac I 酶切, 酚/氯仿抽提, 乙醇沉淀, 溶于250 μ L Opti-MEM中, 再加Lipofectamine-2000 8 μ L与250 μ L Opti-MEM, 室温静置5 min, 轻轻混匀, 室温孵育15-20 min。将其均匀滴加入293细胞中, 轻轻摇匀细胞培养板, 使加入的混合物均匀分布于培养液中, 转染8 h后, 弃去含Lipofectamine-DNA混合物的培养液上清, 换成新鲜DMEM+10%FBS培养基, 37 °C 培养箱中孵育过夜。转染36-48 h后观察细胞状态, 将细胞传到10 cm细胞培养板, 此后每2-3 d 换新鲜的培养基, 5-7 d可看到明显的病毒斑出现, 直到大量细胞崩解脱落, 收获病毒液。

1.2.4 重组腺病毒的扩增与滴度检测: 将293细胞均匀铺于10 cm培养瓶, 培养至细胞密度达到80%-90%时, 加入100 μ L病毒初液进行病毒感染, 轻轻混匀, 继续培养箱中培养, 直至80%-90%细胞变圆并漂浮(约感染后2-3 d), 感染48 h后收样; 将收获的装有细胞培养上清及细胞碎片的离心管, -80 °C/37 °C反复冻融2次, 3000 r/min 离心15 min, 除去细胞碎片, 保留上清(含重组腺病毒)。取病毒上清, 在96孔板中以不同稀释梯度的病毒感染293细胞, 显微镜下观察细胞(约10 d), 记数每排出现(细胞病变效应(cytopathic effect, CPE)的孔数, 阴性对照组不得有CPE出现。

1.2.5 重组腺病毒中TNF α -scFv的Western blot 鉴定: 用蛋白提取试剂盒提取经重组腺病毒感染的293A细胞的蛋白, 使用BCA蛋白测定试剂盒测定上清液中的蛋白浓度, 进行免疫印迹实验。即加入2 \times SDS-PAGE上样缓冲液, 100 °C

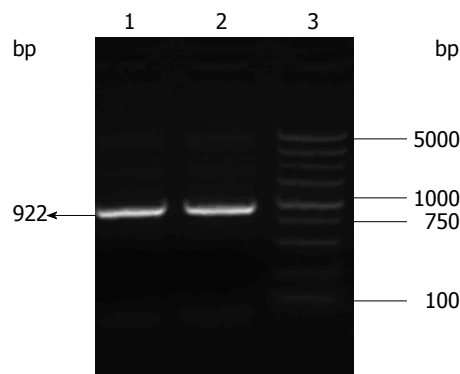


图1 DNA凝胶电泳图显示PCR结果。泳道1-2: TNF α -scFv重组片段PCR产物; 3: Marker DL5000(从上至下分别5000、3000、2000、1500、1000、750、500、250、100 bp)。TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

煮沸3 min, 10%SDS-PAGE电泳, 考马氏亮蓝染色; 电泳转印100 V 2 h, PBS洗涤3次, TTBS(0.1%Tween-20的PBS)+3%BSA封闭1 h, 加入TTBS+1%BSA稀释的一抗(1:1000), 4 °C 过夜, TTBS洗涤3次, 加入酶标二抗(1:2000), 室温孵育2 h, TTBS洗涤3次, 加入底物DAB/H₂O₂显色。

2 结果

2.1 目的基因重组片段的PCR扩增 以携带TNF α -scFv基因的载体PUC57-Amp为模板, PCR扩增TNF α -scFv目的片段, 所扩增出的片段与预期922 bp(箭头所示)大小相符(图1)。

2.2 穿梭载体pDONR221-TNF α -scFv的菌落PCR鉴定 目的片段TNF α -scFv重组到中间载体pDONR221上, 转化大肠杆菌DH5 α 感受态细胞, 挑选阳性克隆, 提取质粒, 以质粒为模板, TNF α -scFv-ATTB1/TNF α -scFv-ATTB2为引物进行菌落PCR鉴定(图2)。阳性质粒送测序, PCR鉴定为阳性的克隆经质粒提取纯化后测序, 获得的序列完全正确。TNF α -scFv基因序列如下: ATGCCATCTTCTGTCTCGTGGGGCATCCTCCT-GCTGGCAGGCCTGTGCTGCCTGGTCCCT-GTCTCCCTGGCTATGGCCGAGGTGCAGCT-GTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCT-GTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGC-TATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAAG-TATTTCTTCTACTGGTGCTTCTACAACT-TACGCAGACTCCGTGAAGGGCAGGTTAC-CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG-TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG-

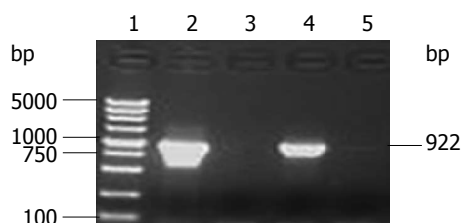


图2 穿梭载体pDONR221-TNF α -scFv的菌落PCR鉴定。泳道1: Marker DL5000(从上至下分别为5000、3000、2000、1500、1000、750、500、250、100 bp); 2: 阳性对照(以PUC57-Amp为模板); 3、5: 阴性克隆PCR扩增结果; 4: 阳性克隆PCR扩增结果。TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

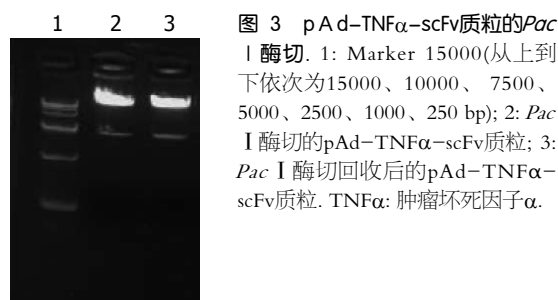


图3 pAd-TNF α -scFv质粒的Pac I 酶切。1: Marker 15000(从上到下依次为15000、10000、7500、5000、2500、1000、250 bp); 2: Pac I 酶切的pAd-TNF α -scFv质粒; 3: Pac I 酶切回收后的pAd-TNF α -scFv质粒。TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

GACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGTGGTGCTGCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGCGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCAGCGCGGTGGCGGGTCGACGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATAGTG-CATCCTATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGCTAATAATGCTCCTACTACGTTGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCGGCCGCGGACTACAAAGACCATGACGTGATTACAAGGATGACGATGACAAG.

2.3 pAd-TNF α -scFv质粒Pac I 酶切电泳图 重组腺病毒质粒pAd/CMV/V5-DEST-TNF α -scFv用Pac I 酶切, 获得条带与预期大小一致(图3)。

2.4 pAd-TNF α -scFv在293细胞中的包装及其滴度的测定 重组腺病毒质粒pAd-TNF α -scFv转染293细胞, 获得重组腺病毒Ad-TNF α -scFv, 进一步感染293细胞扩增纯化后, 测得重组腺病毒滴度为 2.5×10^{11} TCID₅₀/mL(图4)。

2.5 TNF α -scFv过表达Western blot结果 含目的

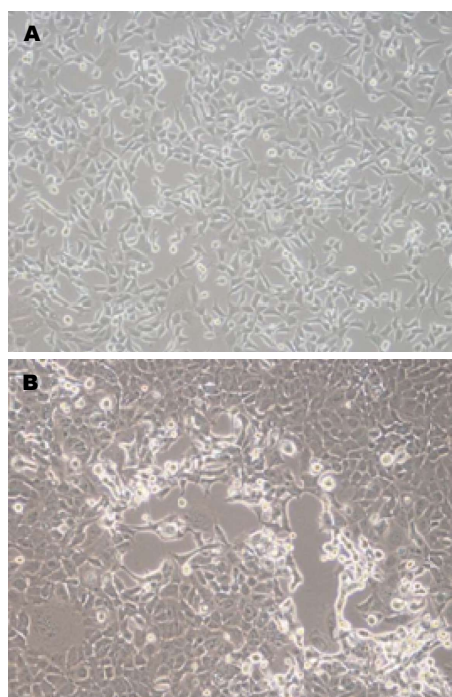


图4 pAd-TNF α -scFv在293细胞中的包装($\times 100$)。A: 转染前293细胞; B: pAd-TNF α -scFv在293细胞中包装转染7 d。TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

基因TNF α -scFv的重组腺病毒Ad-TNF α -scFv感染293细胞24 h后, 其目的蛋白在该细胞中得到了高表达(图5)。

3 讨论

正常生理状况下, 体内TNF α 活性极低, 对肝细胞不但无损伤作用, 反而会促进细胞的增殖及分化^[15,16]。然而, 在某些病理条件下, TNF α 持续或大量释放至局部组织体液中, 与其他细胞因子关系失调, 可介导致病因素对肝细胞的损伤, 从而引起不同程度的肝脏疾病^[17,18]。在病理生理状态下, TNF是机体最早释放的促炎性细胞因子, 在动物小鼠血清中大约30 min能够检测出^[19]。Fong等^[20]研究表明, 有效地阻断机体早期快速释放的TNF α , 可显著地抑制机体内其他一些炎性介质[如白介素-1(interleukin-1, IL-1)和IL-6]的进一步释放, 从而有效地阻止疾病的进展。近年来, 用中和性TNF α 单克隆抗体可阻止TNF α 引起的许多疾病和炎症反应^[21,22], 因此, 抗TNF α 抗体具有非常广阔的临床应用前景。然而抗TNF α 单克隆抗体对人有较强的免疫原性, 临床长期反复多次给药时, 会使人体内产生较强的人抗鼠抗体反应, 使其临床疗效减弱甚至消失。而本研究选用的scFv仅含有完整抗体的可变区, 不含天然抗体的恒定区, 因而其免疫原性较单克隆抗

■应用要点

本文成功构建了抗TNF α 单链抗体复制缺陷型腺病毒载体, 为进一步研究抗TNF α -scFv对内毒素诱导的肝细胞坏死的阻断效果奠定了良好的基础。

■名词解释

单链抗体: 利用基因工程原理将抗体的轻链(VL)和重链(VH)可变区片段(Fv)用一条较短的连接肽(linker)连接在一起的小分子抗体。其基本结构为VH-linker-VL或VL-linker-VH。由于其具有与抗原结合的活性区域, 因而保留了天然抗体的特异性和相似的亲和力。

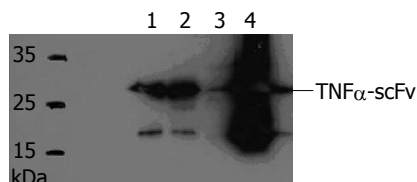


图5 Western blot检测重组腺病毒转染的293A细胞中TNF α -scFv的表达。1: 重组腺病毒转染293细胞培养上清; 2: 重组腺病毒转染293细胞培养上清(浓缩); 3: 空白蛋白对照; 4: 重组腺病毒转染293细胞蛋白提取物。TNF α : 肿瘤坏死因子 α 。

体明显减低, 从而最大限度地减轻了异种蛋白质引起的免疫变态反应。由于scFv仍具有与抗原结合的活性区域, 因而保留了天然抗体的特异性和相似的亲和力^[23]。同时, 由于不含完整抗体的恒定区, 因而不与非靶细胞的Fc受体结合, 从而减少了抗体的非特异性结合, 更易于到达目标部位并可获得较高浓度的聚集^[24]。

基因治疗可将外源的目的基因片段插入合适的表达载体中, 再以载体导入机体靶细胞, 使目的基因在机体内高效表达, 达到临床治疗的效果。肝脏作为基因治疗的主要靶器官, 目前其已被广泛应用各种肝脏疾病的研究^[25]。同时, 腺病毒载体因其宿主范围广、感染效率高、高性质稳定、包装容量大、繁殖滴度高等优点, 使其在基因治疗领域得到了广泛应用^[26-28]。然而仍具备复制能力的重组腺病毒对靶细胞可产生一定的损伤, 课题组为了增加病毒转染的安全性, 在这次研究中选用设计更加合理的第二代重组腺病毒作为合适的载体。第二代腺病毒载体已被不同程度的删除了E1、E2和/或E4基因, 这些基因编码的相关病毒蛋白可诱导大多数机体的免疫反应^[28], 另外, Barry等^[29]也研究表明, E1区基因可编码多种与病毒免疫逃避有关的蛋白质, 因而去除了相关的基因, 从而大大降低了腺病毒载体的免疫原性。在第二代腺病毒载体中, pAd/CMV/V5-DEST为E1区和E3区缺失的复制缺陷型重组腺病毒载体, 由于E1区基因为腺病毒复制所必需, 因此需要一个能够产生E1蛋白(E1A和E1B)的293A细胞来提供反式补偿, 从而使得重组腺病毒能够复制和大量扩增。同时他可以用两种抗生素筛选成功转化的质粒, 且带有V5表位标签, 表达出目的基因蛋白同时也携带V5融合蛋白, 便于检测。这种复制缺陷型重组腺病毒仍具有感染靶细胞的能力但不可复制, 因而不会对靶细胞造成直接的损害, 有利于其在基因治疗研究中的应用^[30]。

鉴于既往传统的腺病毒载体构建过程繁琐, 费时费力, 稳定性差, 阻碍了实验的进展。我们采用了He等^[31]研究的质粒间同源重组方法, 即将外源基因整合进入腺病毒基因组中, 不仅可避免重组过程中目的基因产生突变, 而且可防止野生型病毒的混入, 因而显得安全可靠, 方法简便易行, 而且成功率高, 并大大简化并加快了重组腺病毒产生过程。本次研究, 我们先把携带有目的基因(TNF α -scFv)的PUC57-Amp装入一个带有腺病毒基因组同源序列的穿梭质粒pDONR221中, 构建成转移质粒pDONR221-TNF α -scFv, 再将其与克隆了腺病毒基因组的质粒pAd/CMV/V5-DEST共转染293细胞, 通过转移质粒与腺病毒基因组的同源序列间发生同源重组, 目的基因便被转移到腺病毒基因组中, 形成一个在E1或E3缺失区带有目的基因的重组体腺病毒, 并在293细胞中复制和包装成病毒颗粒。最终Western blot分析证实, 重组腺病毒能有效的携带TNF α -scFv基因在靶细胞中高水平表达。这一初步研究结果为我们今后继续开展重型肝炎的基因治疗研究提供了实验基础。

4 参考文献

- Jadali Z, Amiri MM, Ravanbakhsh M. Apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with sepsis. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 646-650 [PMID: 21045385 DOI: 10.4103/0377-4929.72013]
- Pérez-Fuentes R, López-Colombo A, Ordóñez-Torquero G, Gomez-Albino I, Ramos J, Torres-Rasgado E, Salgado-Rosas H, Romero-Díaz M, Pulido-Pérez P, Sánchez-Guillén MC. Correlation of the serum concentrations of tumour necrosis factor and nitric oxide with disease severity in chronic Chagas disease (American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol* 2007; 101: 123-132 [PMID: 17316498 DOI: 10.1179/136485907X154593]
- Xing T, Li L, Cao H, Huang J. Altered immune function of monocytes in different stages of patients with acute on chronic liver failure. *Clin Exp Immunol* 2007; 147: 184-188 [PMID: 17177978]
- Singhal S, Chakravarty A, Das BC, Kar P. Tumour necrosis factor- α and soluble Fas ligand as biomarkers in non-acetaminophen-induced acute liver failure. *Biomarkers* 2009; 14: 347-353 [PMID: 19505222 DOI: 10.1080/13547500903013664]
- Papa S, Bubici C, Zazzeroni F, Franzoso G. Mechanisms of liver disease: cross-talk between the NF- κ B and JNK pathways. *Biol Chem* 2009; 390: 965-976 [PMID: 19642868 DOI: 10.1515/BC.2009.111]
- Lee TW, Fedorak RN. Tumor necrosis factor- α monoclonal antibodies in the treatment of inflammatory bowel disease: clinical practice pharmacology. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 543-557 [PMID: 20951917 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.08.018]
- Brunasso AM, Puntoni M, Gulia A, Massone C. Safety of anti-tumour necrosis factor agents in patients with chronic hepatitis C infection: a sys-

- tematic review. *Rheumatology* (Oxford) 2011; 50: 1700-1711 [PMID: 21690185 DOI: 10.1093/rheumatology/ker190]
- 8 Coffin CS, Fraser HF, Panaccione R, Ghosh S. Liver diseases associated with anti-tumor necrosis factor- α (TNF- α) use for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 479-484 [PMID: 20848520 DOI: 10.1002/ibd.21336]
 - 9 Khokhar OS, Lewis JH. Hepatotoxicity of agents used in the management of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2010; 28: 508-518 [PMID: 20926880 DOI: 10.1159/000320410]
 - 10 Coffin CS, Fraser HF, Panaccione R, Ghosh S. Liver diseases associated with anti-tumor necrosis factor- α (TNF- α) use for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 479-484 [PMID: 20848520 DOI: 10.1002/ibd.21336]
 - 11 Zhang MY, Borges AR, Ptak RG, Wang Y, Dimitrov AS, Alam SM, Wiczorek L, Bouma P, Fouts T, Jiang S, Polonis VR, Haynes BF, Quinnan GV, Montefiori DC, Dimitrov DS. Potent and broad neutralizing activity of a single chain antibody fragment against cell-free and cell-associated HIV-1. *MAbs* 2010; 2: 266-274 [PMID: 20305395]
 - 12 Koh WW, Steffensen S, Gonzalez-Pajuelo M, Hoorlbeke B, Gorlani A, Szyndol A, Forsman A, Aasa-Chapman MM, de Haard H, Verrips T, Weiss RA. Generation of a family-specific phage library of llama single chain antibody fragments that neutralize HIV-1. *J Biol Chem* 2010; 285: 19116-19124 [PMID: 20400507 DOI: 10.1074/jbc.M110.116699]
 - 13 Jafari R, Holm P, Sandegren J, Stigbrand T, Sundström BE. Localization of complexed anticytokerin 8 scFv TS1-218 to HeLa HEp-2 multicellular tumor spheroids and experimental tumors. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25: 455-463 [PMID: 20707717 DOI: 10.1089/cbr.2010.0785]
 - 14 Pérez-Martínez D, Tanaka T, Rabbitts TH. Intracellular antibodies and cancer: new technologies offer therapeutic opportunities. *Bioessays* 2010; 32: 589-598 [PMID: 20544739 DOI: 10.1002/bies.201000009]
 - 15 Yamada Y, Kirillova I, Peschon JJ, Fausto N. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor: deficient liver regeneration in mice lacking type I tumor necrosis factor receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 1441-1446 [PMID: 9037072 DOI: 10.1073/pnas.94.4.1441]
 - 16 Webber EM, Bruix J, Pierce RH, Fausto N. Tumor necrosis factor primes hepatocytes for DNA replication in the rat. *Hepatology* 1998; 28: 1226-1234 [PMID: 9794905 DOI: 10.1002/hep.510280509]
 - 17 Bradham CA, Plumpe J, Manns MP, Brenner DA, Trautwein CI. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol* 1998; 275: G387-G392
 - 18 Diehl AM. Cytokine regulation of liver injury and repair. *Immunol Rev* 2000; 174: 160-171 [PMID: 10807515 DOI: 10.1034/j.1600-0528.2002.017411.x]
 - 19 Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987; 330: 662-664 [PMID: 3317066 DOI: 10.1038/330662a0]
 - 20 Fong Y, Tracey KJ, Moldawer LL, Hesse DG, Manogue KB, Kenney JS, Lee AT, Kuo GC, Allison AC, Lowry SF. Antibodies to cachectin/tumor necrosis factor reduce interleukin 1 beta and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *J Exp Med* 1989; 170: 1627-1633 [PMID: 2809510 DOI: 10.1084/jem.170.5.1627]
 - 21 Brenndörfer ED, Weiland M, Frelin L, Derk E, Ahlén G, Jiao J, Bode JG, Sällberg M. Anti-tumor necrosis factor α treatment promotes apoptosis and prevents liver regeneration in a transgenic mouse model of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 52: 1553-1563 [PMID: 20886569 DOI: 10.1002/hep.23870]
 - 22 Bragagni G, Lari F, Magenta G, Brogna R, Zoli G. [Echocardiographic evaluation of anti-tumor necrosis factor- α therapy with infliximab in patients without cardiac pathologies]. *Recenti Prog Med* 2010; 101: 289-292 [PMID: 20842955]
 - 23 Ohshima M, Inoue K, Hayashi H, Tsuji D, Mizugaki M, Itoh K. Generation of AcGFP fusion with single-chain Fv selected from a phage display library constructed from mice hyperimmunized against 5-methyl 2'-deoxycytidine. *Protein Eng Des Sel* 2010; 23: 881-888 [PMID: 20876190 DOI: 10.1093/protein/gzq066]
 - 24 Bühler P, Wetterauer D, Gierschner D, Wetterauer U, Beile UE, Wolf P. Influence of structural variations on biological activity of anti-PSMA scFv and immunotoxins targeting prostate cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 3373-3379 [PMID: 20944111]
 - 25 Domvri K, Zarogoulidis P, Porpodis K, Koffa M, Lambropoulou M, Kakolyris S, Kolios G, Zarogoulidis K, Chatzaki E. Gene therapy in liver diseases: state-of-the-art and future perspectives. *Curr Gene Ther* 2012; 12: 463-483 [PMID: 22845887 DOI: 10.2174/156652312803519788]
 - 26 Wang L, Qi X, Sun Y, Liang L, Ju D. Adenovirus-mediated combined P16 gene and GM-CSF gene therapy for the treatment of established tumor and induction of antitumor immunity. *Cancer Gene Ther* 2002; 9: 819-824 [PMID: 12224022 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700502]
 - 27 周智, 张定凤, 任红. HBsAg及B7-2抗原重组腺病毒载体感染免疫研究 2001; 9: 111-113
 - 28 Vorburger SA, Hunt KK. Adenoviral gene therapy. *Oncologist* 2002; 7: 46-59 [PMID: 11854546 DOI: 10.1634/theoncologist.7-1-46]
 - 29 Barry M, McFadden G. Apoptosis regulators from DNA viruses. *Current opinion in immunology* 1998; 10: 422-30 [DOI: 10.1016/S0952-7915(98)80116-7]
 - 30 Bett AJ, Haddara W, Prevec L, Graham FL. An efficient and flexible system for construction of adenovirus vectors with insertions or deletions in early regions 1 and 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8802-8806 [PMID: 8090727 DOI: 10.1073/pnas.91.19.8802]
 - 31 He TC, Zhou S, da Costa LT, Yu J, Kinzler KW, Vogelstein B. A simplified system for generating recombinant adenoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 2509-2514 [PMID: 9482916 DOI: 10.1073/pnas.95.5.2509]

同行评价

本研究实验设计合理, 试验方法正确, 具有一定的学术价值, 为将来应用于临床重型肝炎的治疗提供新的思路和途径。

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



SASH1基因在食管鳞癌中的表达及临床意义

刘秋菊, 贺远龙, 刘红云, 卫红军, 许琳, 王青

■背景资料

SASH1基因是2003年发现的一种新的候选抑癌基因。该基因在多种肿瘤中表达缺失或下调, 此现象与肿瘤临床病理特征的关系日益受到关注。本研究旨在揭示SASH1基因在食管癌中的表达及与肿瘤生物学行为的关系。

刘秋菊, 贺远龙, 许琳, 王青, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科 山东省青岛市 266071

刘红云, 卫红军, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院病理科 山东省青岛市 266071

刘秋菊, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金青年科学基金资助项目, No. 81101813

作者贡献分布: 此课题由贺远龙设计; 研究过程由刘秋菊、刘红云、卫红军及许琳操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王青与贺远龙提供; 数据分析由刘秋菊完成; 本论文的写作由刘秋菊、贺远龙及王青完成。

通讯作者: 王青, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院东区消化内科。

qingwangqingdao@yahoo.com.cn

电话: 0532-88905630

收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-06-25

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Clinical significance of expression of SASH1 in esophageal squamous cell carcinoma

Qiu-Ju Liu, Yuan-Long He, Hong-Yun Liu, Hong-Jun Wei, Lin Xu, Qing Wang

Qiu-Ju Liu, Yuan-Long He, Lin-Xu, Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Hong-Yun Liu, Hong-Jun Wei, Department of Pathology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81101813

Correspondence to: Qing Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. qingwangqingdao@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-24 Revised: 2013-06-25

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To detect the expression of SAM- and SH3-domain containing 1 (SASH1) in human esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), and to analyze the relationship between SASH1 expression and clinical and pathological parameters of ESCC.

METHODS: The expression of SASH1 was detected by immunohistochemistry in 72 ESCC

specimens and 40 tumor-adjacent specimens.

RESULTS: The positive rate of SASH1 protein expression in ESCC was significantly lower than that in tumor-adjacent non-carcinoma tissue (41.67% vs 80.00%, $P < 0.001$). The positive rate of SASH1 protein expression was significantly higher in patients without lymph node metastasis than in those with lymph node metastasis ($\chi^2 = 6.583$, $P < 0.05$). Expression of SASH1 was associated with tumor differentiation and TNM stage in ESCC (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Down-regulation of SASH1 expression occurs in ESCC. SASH1 may be a novel tumor suppressor in ESCC and can be used as a molecular marker for the diagnosis and treatment of ESCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; SASH1; Immunohistochemistry

Liu QJ, He YL, Liu HY, Wei HJ, Xu L, Wang Q. Clinical significance of expression of SASH1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2198-2201 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2198.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2198>

摘要

目的: 探讨候选抑癌基因SASH1在食管鳞状细胞癌中的表达及与肿瘤相关的临床病理特征的关系。

方法: 应用免疫组织化学SP法检测72例食管鳞癌组织及40例癌旁组织中SASH1蛋白的表达。

结果: SASH1蛋白在癌组织阳性表达率显著低于癌旁组织, 统计学分析表明两者差异有显著意义(41.67% vs 80.00%, $P < 0.001$)。其表达率在食管鳞癌伴淋巴结转移组中较不伴淋巴结转移组明显降低($\chi^2 = 6.583$, $P < 0.05$)。其在食管鳞癌组织中的表达水平与肿瘤分化程度及TNM分期相关($P < 0.05$)。

■同行评议者

王建明, 副教授, 南京医科大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系

结论: *SASH1*基因在食管鳞癌中表达下调, 该基因可能是食管鳞癌的肿瘤抑制基因, 可能作为分子标记而用于食管鳞癌的诊断和治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管鳞癌; *SASH1*基因; 免疫组织化学

核心提示: *SASH1*基因在食管鳞癌中的表达下调, 并与肿瘤的分化程度、临床分期、淋巴结转移有关. *SASH1*基因可能作为候选抑癌基因, 用于肿瘤的诊断、治疗及预后判断。

刘秋菊, 贺远龙, 刘红云, 卫红军, 许琳, 王青. *SASH1*基因在食管鳞癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2198-2201 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2198.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2198>

0 引言

*SASH1*基因是进化保守的SLY(SH3-domain containing expressed in lymphocytes)基因家族的一员, 广泛表达于人体多种正常组织(淋巴样干细胞除外)^[1]. 近年来*SASH1*基因作为候选抑癌基因, 在肿瘤中的表达受到越来越多的重视. 研究表明, *SASH1*基因在结肠癌^[2]、肺癌^[3]、骨肉瘤^[4]、黑色素瘤^[5]、神经胶质瘤^[6]等多种肿瘤中表达下降, 并与肿瘤侵袭性生长、转移灶的形成及预后有关. 但迄今为止, 国内外尚未见*SASH1*基因在食管鳞癌中表达的有关报道. 本研究分析了*SASH1*基因在食管鳞癌中的表达情况, 并探讨其临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取青岛市立医院2009-02/2013-02手术切除的食管癌标本72例. 病理诊断确诊为食管鳞状细胞癌, 为原发性, 且病灶位于齿状线上方. 其中男55例, 女17例, 年龄35岁-84岁, 平均57.4岁±6.1岁. 食管鳞癌组无淋巴结转移者40例, 伴淋巴结转移者32例. 所有病例根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)2009年修订的食管癌TNM分期标准进行分期, 其中I期12例, II期34例, III期26例. 另取癌旁组织(距瘤块组织5 cm以上)40例. 患者术前均未经放、化疗及免疫治疗. 标本经40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋后, 进行4 μm连续切片. 兔抗人*SASH1*多克隆抗体(浓缩型)购自ABGENT公司. 快捷型酶标羊抗鼠/兔IgG复合物(二抗)、非免疫动物血清(牛)、DAB显色试剂盒、柠檬

酸组织抗原修复液均购自福州迈新生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 切片逐级脱蜡、水化至水. 置于1:100柠檬酸溶液(pH 6.0)中, 高压修复5 min. 自然冷却至室温. 3%过氧化氢(灭内源过氧化物酶)10 min. 非免疫动物血清(牛)封闭10 min. 滴加一抗(浓缩液1:300稀释), 4℃冰箱过夜. 复温20 min后, 滴加二抗工作液, 静置10 min. DAB显色. 苏木素复染20 s. 脱水、透明、封片. 用PBS代替一抗作空白对照.

1.2.2 结果判定: 采用双盲法统计实验结果. 以细胞核中出现明显的棕黄色颗粒为*SASH1*蛋白表达阳性. 400倍视野下每张切片选择5个代表区. 分别进行细胞计数, 按照阳性细胞百分数评分, 阳性细胞百分数5%以下为0分, 5%-24%为1分, 25%-49%为2分, 50%-74%为3分, 75%以上为4分. 按染色强度评分, 无着色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. 最后以阳性细胞百分数计分和染色强度计分相乘所得的总分进行结果判定. 0-4分作为阴性, 5分以上作为阳性.

统计学处理 应用SPSS19.0软件进行统计分析. *SASH1*的表达与食管鳞癌临床病理特征的关系采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *SASH1*蛋白在食管鳞癌及癌旁组织中的表达 *SASH1*蛋白阳性表达主要表现在细胞核出现明显棕黄色颗粒(图1). 本实验中, *SASH1*蛋白在癌组织阳性表达率(41.67%)较癌旁组织(80.00%)明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.001$, 表1).

2.2 *SASH1*蛋白的表达与食管鳞癌临床病理特征之间的关系 *SASH1*蛋白在中-高分化食管鳞癌组织阳性率高于低分化组织($P < 0.05$), 食管鳞癌伴淋巴结转移组阳性表达率低于无淋巴结转移组($P < 0.05$), TNM分期III期*SASH1*蛋白的阳性表达率低于I-II期病例($P < 0.05$). 结果表明: *SASH1*蛋白在食管鳞癌组织中的表达水平与肿瘤分化程度、淋巴结转移情况及食管鳞癌的进展程度有关, 而其表达与患者年龄、性别无关($P > 0.05$, 表2).

3 讨论

*SASH1*基因是编码衔接蛋白的SLY基因家族的一员^[7]. 该基因是2003年德国学者Zeller等^[1]研究人染色体6q23-25的杂合性缺失时发现的.

■ 研发前沿

目前, *SASH1*基因与恶性肿瘤关系的研究已成为热点. 然而, *SASH1*基因的作用机制尚不清楚, 还有不少问题需要进一步阐明: (1)*SASH1*与肿瘤相关信号转导通路的关系; (2)微卫星状态和*SASH1*基因之间的关系; (3)*SASH1*表达水平变化是否与表观遗传学有关, 比如启动子的过甲基化.

■ 相关报道

Chen等通过转染*SASH1*进入人肺腺癌细胞系A549发现, 转染的A549细胞其*SASH1*蛋白表达升高, 而细胞周期蛋白D1、MMP-2/9的表达均下降, 且细胞活力降低; 并用PI法证明*SASH1*基因的表达升高导致A549细胞系的细胞周期阻滞在G₀/G₁期. 这表明*SASH1*基因可能抑制癌细胞的生长、增殖、转移, 促进凋亡.

■创新亮点

本研究首次采用免疫组织化学技术检测*SASH1*基因在食管鳞癌组织、癌旁组织中的表达情况,并探讨其与食管鳞癌临床病理特征之间的关系。

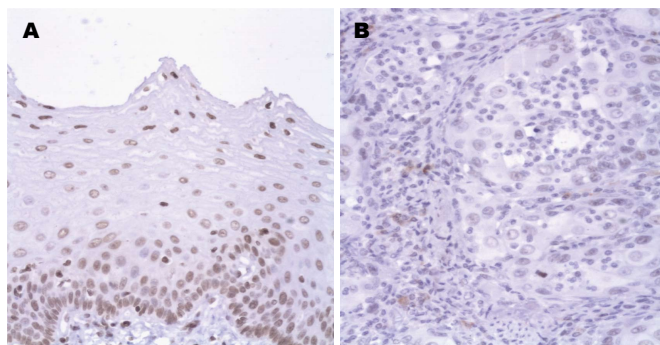


图 1 *SASH1*蛋白的表达(SP×200)。A: 癌旁组织*SASH1*阳性表达; B: 癌组织*SASH1*阴性表达。

表 1 *SASH1*蛋白在人食管鳞癌组织及癌旁组织中的表达

	<i>n</i>	<i>SASH1</i> 的表达		阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
		阳性	阴性			
癌组织	72	30	42	41.7	24.464	0.000
癌旁组织	40	32	8	80.0		

表 2 *SASH1*与食管鳞癌临床病理特征的关系

临床病理特征	<i>n</i>	<i>SASH1</i> 的表达		阳性率(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值
		阳性	阴性			
年龄(岁)					0.411	0.521
≥60	32	12	20	37.5		
<60	40	18	22	45.0		
性别					1.164	0.281
女	17	9	8	52.9		
男	55	21	34	38.2		
分化程度					8.102	0.004
高-中	52	27	25	51.9		
低	20	3	17	15.0		
淋巴结转移					6.583	0.010
无	40	22	18	55.0		
有	32	8	24	25.0		
TNM分期					8.428	0.004
I – II	46	25	21	54.4		
III	26	5	21	19.2		

*SASH1*蛋白的结构包括两种介导蛋白间相互作用的基序: 一个Src同源结构域3(Src homology domain 3, SH3)结构域, 两个不育 α 基序(sterile α -module, SAM)结构域。SH3结构域能够识别富含脯氨酸和疏水残基的序列而介导蛋白之间的相互作用^[8], SAM结构域可与含相同结构域的蛋白发生同源和异源的寡聚化作用^[9,10]。自从Zeller等^[1]研究发现乳腺癌中*SASH1*基因表达下调后, 大量研究证明其在多种肿瘤组织中存在表达下调现象。本试验通过免疫组织化学的方法检测*SASH1*基因在食管鳞癌中的表达, 分析*SASH1*基因与食管鳞癌分化程度等临床病理特征之间的

关系, 探讨其在食管癌发生发展中的作用。

Zeller等^[1]报道, 在其研究的65例乳腺癌样本中, *SASH1*基因30%缺失, 70%表达下调。而在Rimkus等^[2]研究的113例结肠癌组织中, *SASH1*基因48例呈阳性表达, 表达率为42.5%。本研究结果中, *SASH1*蛋白在食管鳞癌组织阳性表达率41.7%, 与上述报道相近。*SASH1*基因在肿瘤组织中出现表达缺失或下调的机制及其意义尚不清楚, 可能与以下因素有关: (1)影响信号转导通路。Lindvall等^[11]研究发现*SASH1*基因可能是Bruton酪氨酸激酶相关信号转导途径的调节者。Dubois等^[12]研究发现信号接头蛋白*SASH1*结合14-3-3

■应用要点

*SASH1*基因的异常表达可作为食管鳞癌诊断的生物学标志, 并对食管鳞癌的临床治疗及预后判断有一定指导意义。

蛋白应答于磷脂酰肌醇3-激酶相关信号转导途径。而磷脂酰肌醇3-激酶是Bruton酪氨酸激酶的上游信号分子; (2)调节微丝骨架及促进细胞基质的黏附作用。Martini等^[13]证明SASH1蛋白可能通过与皮动蛋白结合来调节细胞伪足的活动, 且SASH1的表达导致细胞黏附于纤维连接蛋白和层黏连蛋白的增多, 因而抑制了细胞转移。黏附功能下降是恶性肿瘤细胞发生转移的关键步骤之一, 而皮动蛋白与细胞基质的黏附有关^[14]。少数已知的皮动蛋白结合伴侣富含脯氨酸序列, 可与SASH1所含脯氨酸序列结合而发挥作用^[15,16]。Rimkus等^[2]研究表明, 随着结肠癌TNM分期的升高, SASH1的表达明显下降, 同时证明, 结肠癌伴肝转移组与不伴肝转移组相比, 其表达下降。本实验研究证明, 食管鳞癌伴淋巴结转移组的阳性表达率(25.0%)明显低于无淋巴结转移组(55.0%), 且SASH1的表达与食管鳞癌的进展程度密切相关。因而, *SASH1* 基因表达缺失或下调可能与食管鳞癌的侵袭和转移密切相关($P<0.05$), 是预后不良的因素。此外, 还有证据表明, *SASH1* 基因可影响肿瘤细胞的成瘤能力及通过核质穿梭而影响肿瘤的发生、发展^[6,13]。

本研究结果显示, SASH1蛋白在食管鳞癌组织中表达明显低于癌旁组织, 并与肿瘤分化程度、淋巴结转移情况及临床分期相关。SASH1基因的表达下调可能是食管鳞癌发生的重要分子事件。SASH1基因在食管癌中的异常表达及其机制值得进一步深入研究, 以期对食管癌的诊断、临床治疗及预后判断等探寻新的思路和策略。

4 参考文献

- Zeller C, Hinzmann B, Seitz S, Prokoph H, Burkhard-Goettges E, Fischer J, Jandrig B, Schwarz LE, Rosenthal A, Scherneck S. SASH1: a candidate tumor suppressor gene on chromosome 6q24.3 is downregulated in breast cancer. *Oncogene* 2003; 22: 2972-2983 [PMID: 12771949 DOI: 10.1038/sj.onc.1206474]
- Rimkus C, Martini M, Friederichs J, Rosenberg R, Doll D, Siewert JR, Holzmann B, Janssen KP. Prognostic significance of downregulated expression of the candidate tumour suppressor gene SASH1 in colon cancer. *Br J Cancer* 2006; 95: 1419-1423 [PMID: 17088907 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603452]
- Chen EG, Chen Y, Dong LL, Zhang JS. Effects of SASH1 on lung cancer cell proliferation, apoptosis, and invasion in vitro. *Tumour Biol* 2012; 33: 1393-1401 [PMID: 22488244 DOI: 10.1007/s13277-012-0387-2]
- Meng Q, Zheng M, Liu H, Song C, Zhang W, Yan J, Qin L, Liu X. SASH1 regulates proliferation, apoptosis, and invasion of osteosarcoma cell. *Mol Cell Biochem* 2013; 373: 201-210 [PMID: 23108792 DOI: 10.1007/s11010-012-1491-8]
- Lin S, Zhang J, Xu J, Wang H, Sang Q, Xing Q, He L. Effects of SASH1 on melanoma cell proliferation and apoptosis in vitro. *Mol Med Rep* 2012; 6: 1243-1248 [PMID: 23023727 DOI: 10.3892/mmr.2012.1099]
- Yang L, Liu M, Gu Z, Chen J, Yan Y, Li J. Overexpression of SASH1 related to the decreased invasion ability of human glioma U251 cells. *Tumour Biol* 2012; 33: 2255-2263 [PMID: 22915266 DOI: 10.1007/s13277-012-0487-z]
- Beer S, Scheikl T, Reis B, Hüser N, Pfeffer K, Holzmann B. Impaired immune responses and prolonged allograft survival in Sly1 mutant mice. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 9646-9660 [PMID: 16227612 DOI: 10.1128/MCB.25.21.9646-9660.2005]
- Pawson T. Protein modules and signalling networks. *Nature* 1995; 373: 573-580 [PMID: 7531822 DOI: 10.1038/373573a0]
- Kim CA, Gingery M, Pilpa RM, Bowie JU. The SAM domain of polyhomeotic forms a helical polymer. *Nat Struct Biol* 2002; 9: 453-457 [PMID: 11992127]
- Kim CA, Phillips ML, Kim W, Gingery M, Tran HH, Robinson MA, Faham S, Bowie JU. Polymerization of the SAM domain of TEL in leukemogenesis and transcriptional repression. *EMBO J* 2001; 20: 4173-4182 [PMID: 11483520 DOI: 10.1093/emboj/20.15.4173]
- Lindvall JM, Blomberg KE, Wennborg A, Smith CI. Differential expression and molecular characterisation of Lmo7, Myo1e, Sash1, and Mcoln2 genes in Btk-defective B-cells. *Cell Immunol* 2005; 235: 46-55 [PMID: 16137664 DOI: 10.1016/j.cellimm.2005.07.001]
- Dubois F, Vandermoere F, Gernez A, Murphy J, Toth R, Chen S, Geraghty KM, Morrice NA, MacKintosh C. Differential 14-3-3 affinity capture reveals new downstream targets of phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Mol Cell Proteomics* 2009; 8: 2487-2499 [PMID: 19648646 DOI: 10.1074/mcp.M800544-MCP200]
- Martini M, Gnann A, Scheikl D, Holzmann B, Janssen KP. The candidate tumor suppressor SASH1 interacts with the actin cytoskeleton and stimulates cell-matrix adhesion. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 1630-1640 [PMID: 21820526 DOI: 10.1016/j.biocel.2011.07.012]
- Bryce NS, Clark ES, Leysath JL, Currie JD, Webb DJ, Weaver AM. Cortactin promotes cell motility by enhancing lamellipodial persistence. *Curr Biol* 2005; 15: 1276-1285 [PMID: 16051170 DOI: 10.1016/j.cub.2005.06.043]
- Buday L, Downward J. Roles of cortactin in tumor pathogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775: 263-273 [PMID: 17292556]
- van Rossum AG, Moolenaar WH, Schuuring E. Cortactin affects cell migration by regulating intercellular adhesion and cell spreading. *Exp Cell Res* 2006; 312: 1658-1670 [PMID: 16527272 DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.01.033]

同行评价

本文选题新颖, 设计合理, 结果可靠, 具有一定的意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃左动脉灌注化疗/栓塞治疗晚期贲门癌70例

李玉红, 杨宏, 艾建中, 丁君超, 闫玉川

■背景资料

胃癌是我国常见的消化系恶性肿瘤之一,起源于贲门区的胃癌称为贲门癌。贲门癌因其部位特殊、早期缺乏特异性症状,所以就诊时中晚期患者较多。对于失去手术切除机会的患者,临床上一直在探索一种切实可行的非手术疗法。随着介入放射学的发展,插管技术的不断提高,已能行超选择胃左动脉插管。

李玉红, 杨宏, 艾建中, 丁君超, 闫玉川, 唐山工人医院 河北省唐山市 063000

李玉红, 副主任护师, 主要从事肿瘤外科护理及造口、伤口及失禁领域的临床工作和研究。

作者贡献分布: 此课题由李玉红设计; 研究过程由杨宏、艾建中、丁君超及闫玉川协助完成; 研究所用分析工具由杨宏提供; 数据分析由杨宏、艾建中、丁君超及闫玉川等协助完成; 本文写作由李玉红完成。

通讯作者: 李玉红, 副主任护师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山工人医院肿瘤外科。scorpion_ts@126.com

收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-06-19

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-08

Left gastric arterial infusion chemotherapy and embolization for treatment of advanced gastric cancer: An analysis of 70 cases

Yu-Hong Li, Hong Yang, Jian-Zhong Ai, Jun-Chao Ding, Yu-Chuan Yan

Yu-Hong Li, Hong Yang, Jian-Zhong Ai, Jun-Chao Ding, Yu-Chuan Yan, Tangshan Worker's Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Hong Li, Associate Chief Nurse, Department of Surgical Oncology, Tangshan Worker's Hospital, 27 Wenhua Road, Tangshan 063000, Hebei Province, China. scorpion_ts@126.com

Received: 2013-05-24 Revised: 2013-06-19

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To observe the efficacy of left gastric arterial infusion chemotherapy in the treatment of advanced cardia cancer.

METHODS: Seventy patients with pathologically proven cardia cancer who underwent left gastric artery cannula infusion chemotherapy and/or embolization at our hospital from November 2010 to November 2012 were included in this study. The short-term curative effect and adverse reactions were observed.

RESULTS: After interventional therapy, 32 (45.7%) patients achieved complete remission, 20 (28.6%) patients achieved partial remission, 10 (14.3%) patients had stable disease, and 8 (11.4%) patients had progressive disease. The total effective rate was 74.3%.

CONCLUSION: Interventional chemotherapy and embolization can effectively reduce tumor size, relieve symptoms and prolong survival in patients with advanced cardia cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Left gastric arterial infusion chemotherapy; Embolization; Therapeutic; Advanced gastric cancer; Clinical analysis

Li YH, Yang H, Ai JZ, Ding JC, Yan YC. Left gastric arterial infusion chemotherapy and embolization for treatment of advanced gastric cancer: An analysis of 70 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2202-2205 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2202.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2202>

摘要

目的: 观察胃左动脉灌注化疗药物/栓塞治疗晚期贲门癌的疗效。

方法: 2010-11/2012-11唐山工人医院收治的、并经病理活检确诊的贲门癌患者70例,进行胃左动脉插管灌注化疗药物/栓塞治疗,观察近期疗效和不良反应。

结果: 70例患者经介入治疗后,完全缓解: 32例,占45.7%;部分缓解: 20例,占28.6%;稳定: 10例,占14.3%;进展: 8例,占11.4%;总有效率74.3%;中位生存期9.6 mo, 1年生存率为24.3%;主要不良反应为骨髓抑制和胃肠道反应。

结论: 介入化疗及栓塞能有效缩小肿瘤,缓解症状,延长患者生存期。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃左动脉灌注化疗; 栓塞; 治疗; 晚期贲门癌; 临床分析

核心提示: 本组研究表明,经胃左动脉灌注或联合栓塞治疗晚期贲门癌,可使明显减轻或消除吞咽困难,增加食欲和进食量,能改善患者的生存质量或延长其存活时间,而且发生严重并发症者减少。因此,此方法不失为一种安全有效的治疗方法。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

李玉红, 杨宏, 艾建中, 丁君超, 闫玉川. 胃左动脉灌注化疗/栓塞治疗晚期贲门癌70例. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2202-2205 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2202.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2202>

0 引言

胃癌是我国常见的消化系恶性肿瘤之一, 起源于贲门区的胃癌称为贲门癌. 贲门癌因其部位特殊、早期缺乏特异性症状, 所以就诊时中晚期患者较多. 对于失去手术切除机会的患者, 临床上一直在探索一种切实可行的非手术疗法. 随着介入放射学的发展, 插管技术的不断提高, 已能行超选择胃左动脉插管. 经血管造影证实贲门癌的肿瘤供血动脉主要来自胃左动脉, 经胃左动脉灌注抗肿瘤药物进行局部化疗/栓塞, 在介入治疗恶性肿瘤的理论上和实践中都是切实可行的有效方法. 胃左动脉化疗/栓塞既可阻断肿瘤血供, 又可发挥抗癌化疗作用, 同时减轻化疗药物的全身不良反应, 甚至于通过局部介入治疗还可获得二次手术切除的机会. 近年来胃左动脉灌注化疗/栓塞的实验研究及临床应用研究已有报道.

本文对唐山工人医院2010-11/2012-11收治的70例贲门癌患者采用经皮股动脉穿刺插管方法, 向胃左动脉内注入一定剂量的抗癌药物治疗, 其中30例并给予胃左动脉栓塞治疗. 临床分析结果表明, 经胃左动脉灌注或联合栓塞治疗晚期贲门癌, 可使明显减轻或消除吞咽困难, 增加食欲和进食量, 能改善患者的生存质量或延长其存活时间, 而且发生严重并发症者减少.

1 材料和方法

1.1 材料 唐山工人医院2010-11/2012-11收治的、并经病理活检确诊为贲门癌患者70例, 其中男38例, 女32例, 年龄31-73岁, 平均年龄51.7岁. 其中低分化腺癌46例, 黏液腺癌16例, 管状腺癌6例, 未分化癌4例. KPS评分>70分30例, 40例为60-70分, 所有患者均有明显进食困难、上腹部疼痛等症状.

1.2 方法

1.2.1 胃左动脉灌注化疗/栓塞: 局麻下采用Seldinger法经右侧股动脉穿刺插管, 先将胃左动脉导管在DSA下主动脉弓成祥, 继将导管插至胃左动脉造影, 并将导管置于肝固有动脉造影. 经导管灌注稀释的化疗药物, 化疗方案: (1)氟尿嘧啶 1.0 g/m^2 、阿霉素(表阿霉素) 35 mg/m^2 、丝裂霉

素 10 mg/m^2 、亚叶酸钙 0.2 g ; (2)艾恒 130 mg/m^2 、氟尿嘧啶 1.0 g/m^2 、亚叶酸钙 0.2 g . 对于术后化疗不良反应较轻的患者给予氟尿嘧啶 0.5 g/m^2 静脉滴注4 d, 并加用亚叶酸钙增效 0.2 g . 每3-4 wk介入灌注1次, 2次为1疗程. 70例患者共行插管灌注术230次. 用化疗方案(1)者168例, 用化疗方案(2)者62例. 对本组一般状况较好的30例行明胶海绵胃左动脉栓塞, 明胶海绵颗粒用量约20颗. 18例肝内转移灶染色明显, 用适量5-氟尿嘧啶+超液态碘油栓塞, 碘油的用量为2-10 mL. 如患者病情进展, 即中止原治疗方案.

1.2.2 疗效的评价: 疗效的主观评价方法: 患者进食通畅性及KPS评分. 疗效的客观评价标准: (1)病变进展时间: 从治疗开始到疾病进展或死亡, 或有效患者因病变恶化停止治疗日期为止; (2)治疗失败时间: 从治疗开始到任何原因中断治疗日期为止; (3)显效时间: 从治疗开始到病灶疗效初次评价为PR的时间; (4)缓解期: 完全缓解或部分缓解患者从治疗开始到病变进展时间; (5)生存时间, 并分别计算两组1、2年生存率及中位生存时间. 对所有被研究对象, 每6-8 wk行上消化道造影检查1次, 测量可评价的病灶. 完全缓解, 所有可见病灶完全消失不少于4 wk; 部分缓解, 病灶至少缩小50%不少于4 wk, 并不需要每个病灶都有缩小, 但一定没有任何一个病灶有进展或有新病灶的出现; 稳定, 病灶的缩小<50%, 或增大<25%; 进展, 病灶增大>25%, 或出现新病灶. 所有的影像学资料的观察由两名高级放射学专业医师进行.

1.2.3 化疗不良反应评价: 按WHO急性及亚急性标准为0-IV度共5个级别进行评价.

2 结果

2.1 疗效主观评价 70例患者共230次介入治疗中, 共54例患者进食困难较术前有不同程度改善, 占77.1%, 50例患者KPS评分较术前增加.

2.2 疗效客观评价 本组患者经灌注化疗或联合栓塞后, 显效时间为6-16 wk, 平均8.3 wk; 病变进展时间为24-75 wk, 平均52.4 wk; 70例患者经介入治疗后, 治疗2次评价疗效, 完全缓解: 32例, 占45.7%; 部分缓解: 20例, 占28.6%; 稳定: 10例, 占14.3%; 进展: 8例, 占11.4%; 总有效率74.3%.

2.3 生存期观察 随访时间最短8 mo, 最长29 mo, 中位16 mo. 生存期6-29 mo, 中位9.6 mo, 12 mo生存率为24.3%.

2.4 化疗不良反应 血液学不良反应中, 白细胞下

■应用要点

经血管造影证实贲门癌的肿瘤供血动脉主要来自胃左动脉, 经胃左动脉灌注抗肿瘤药物进行局部化疗/栓塞, 在介入治疗恶性肿瘤的理论上和实践中都是切实可行的有效方法.

■相关报道

胃左动脉化疗/栓塞既可阻断肿瘤血供,又可发挥抗癌化疗作用,同时减轻化疗药物的全身不良反应,甚至于通过局部介入治疗还可获得第二步手术切除的机会。近年来胃左动脉灌注化疗/栓塞的实验研究及临床应用研究已有报道。

降发生率为52.9%(37/70),其中 I - II 度白细胞下降发生率为25.7%(18/70), III 度白细胞下降发生率为14.3%(10/70); I - II 度血小板下降发生率为10%(7/70); I - II 度血红蛋白下降发生率为18.6%(13/70)。非血液学不良反应中, 56 例患者一周内出现恶心、呕吐、上腹部烧灼感, 给予制酸药物、胃黏膜保护剂以及对症处理后, 症状均得到缓解及消失; 6 例患者曾出现上消化道出血, 给予制酸药物、止血后 1-3 d 症状消失; 6 例患者出现轻度肾功能损害, 数日后自行恢复正常。

3 讨论

3.1 晚期贲门癌介入治疗的价值 贲门癌多为腺癌, 部分患者已失去手术治疗机会, 因此以往将全身静脉化疗与放疗作为其治疗的主要手段^[1-3], 但贲门癌放疗不敏感, 周围静脉化疗, 尽管其治疗药物同灌注药物相同, 但病灶区域的药物浓度达不到治疗量, 临床症状不易缓解, 总体有效缓解效在20%-52%, 且药物不良反应较重, 患者往往难以坚持^[4]。贲门癌的主要供养动脉是胃左动脉, 经胃左动脉灌注化疗药物无疑是最佳途径^[5,6]。他使药物直接进入病灶的供血动脉, 可显著提高局部的药物浓度, 增强药物的首过效应, 从而充分发挥抗癌药物的作用, 同时也降低了药物的全身不良反应。与静脉法相比, 不仅消除了静脉中药物尚未到病灶就被肝、肾等器官代谢, 排泄的因素, 同时消除了治疗药物在静脉血液中被某些成分结合而失去药效的可能, 其不良反应也比静脉法低。对于一般状况较好的患者的联合应用胃左动脉栓塞, 使癌灶的供血明显受损, 从而进一步控制病情。

3.2 胃左动脉解剖及插管技术 正常胃左动脉是腹腔动脉最小分支, 为胃的主要供血动脉之一, 但其管腔细小。胃左动脉起于腹腔动脉上壁或左上壁, 向左行到贲门, 与主动脉的食管动脉吻合。同时分发出分支供应贲门部, 与脾动脉的胃短动脉吻合。主干沿胃小弯右行, 沿途发出分支供应胃的前、后壁, 同胃右动脉吻合, 形成动脉弓。胃左动脉可直接起自腹主动脉, 脾动脉或肝总动脉^[7,8]。熟悉胃左动脉的开口、走行及其变异, 对于超选成功至关重要, 胃左动脉的起始变异较多, 若术中不能正确认识这些变异, 必然给超选插管带来很大的盲目性。

对于胃左动脉开口在腹腔干近端者, 可直接用胃左动脉进行超选, 对于开口较远者, 可先在

导丝的配合下先将胃左动脉导管送入肝动脉或脾动脉, 拔出导丝后边注射造影剂, 边将胃左导管缓慢后退, 胃左动脉导管在后退的过程中常可弹入胃左动脉, “冒烟” 确认导管头的位置^[9]。对于拟行栓塞的患者, 当导管头嵌入不甚牢靠时, 并在导丝的配合下无法进入胃左动脉远端时, 可考虑使用微导管^[10-14]。

3.3 介入治疗不良反应及对策 胃左动脉灌注化疗药物的全身化疗反应是轻的, 本组患者经对症支持处理, 仅有1例因化疗不良反应而中止后续化疗。化疗药物的骨髓抑制现象在处理后, 常能在短时期的恢复正常, 本组66例患者曾出现白细胞及/或血小板的下降, 经升白及升血小板处理后, 1-5 d 恢复正常^[15-19]。在灌注前30 min 肌注胃复安20 mg, 术中及术后用5-HT₃能明显降低术后胃肠道反应, 对于术后食欲受影响的患者可加用吗叮琳和甲孕酮, 能明显改善化疗后胃肠道反应。常见的灌注后不良应有左上腹不适、疼痛等一般无需治疗可自行缓解消失。有研究说明胃左动脉内化疗灌注对胃组织损伤程度较轻, 恢复较快, 在1 wk 内即恢复正常, 一般不会出现消化系出血和胃穿孔等严重并发症, 但本组共有6例患者曾出现上消化系出血, 灌注后发生消化系出血的原因推测可能由于肿瘤的坏死、脱落, 或由于灌注或加以栓塞后血管变细/闭塞, 造成胃黏膜下血管网的广泛缺血性梗塞、坏死, 随后发生出血, 所以作者认为在术后常规使用强效制酸制尤为为重要, 本组共6例患者出现上消化道出血, 经制酸、止血后无一例出现大出血现象^[20,21]。

总之, 经胃左动脉灌注或联合栓塞治疗晚期贲门癌, 可使明显减轻或消除吞咽困难, 增加食欲和进食量, 能改善患者的生存质量或延长其存活时间, 而且发生严重并发症者减少。因此, 此方法不失为一种安全有效的治疗方法。

4 参考文献

- 1 郭猛. 胃左动脉灌注化疗/栓塞治疗47例晚期贲门癌的临床分析. 重庆医学 2012; 41: 284-286
- 2 张维浩, 王绍奎, 高磊. 经胃左动脉灌注化疗联合 FOLFOX 方案治疗晚期贲门癌临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 1907-1908
- 3 鄂有国, 曹德华, 钱月红, 赵枫. 放射治疗与动脉插管化疗联合应用治疗晚期贲门癌的疗效观察. 中国肿瘤临床与康复 2009; 16: 71-74
- 4 张雪云. 卡培他滨联合放疗治疗老年人进展期胃底贲门癌疗效观察. 实用肿瘤杂志 2011; 26: 53-55
- 5 杨小强, 车明, 周明, 肖春泽, 王秀兰, 胡宜莲, 孟晓玲. 进展期贲门癌双介入治疗的临床观察. 当代医学 2010; 16: 711-712

- 6 王焕英, 吴华清. 贲门癌介入治疗现状. 中国实用医药 2010; 5: 248-250
- 7 Yu W, Whang I, Chung HY, Averbach A, Sugarbaker PH. Indications for early postoperative intraperitoneal chemotherapy of advanced gastric cancer: results of a prospective randomized trial. *World J Surg* 2001; 25: 985-990 [PMID: 11571980 DOI: 10.1007/s00268-001-0067-7]
- 8 Noh SH, Yoo CH, Chung HC, Roh JK, Shin DW, Min JS. Early postoperative intraperitoneal chemotherapy with mitomycin C, 5-fluorouracil and cisplatin for advanced gastric cancer. *Oncology* 2001; 60: 24-30 [PMID: 11150904 DOI: 10.1159/000055292]
- 9 张再军, 李江. 胃底贲门癌介入治疗的疗效观察. 四川解剖学杂志 2011; 19: 18-19
- 10 李书印. 复方氟尿嘧啶联合介入治疗晚期贲门胃底癌67例临床分析. 中国乡村医生 2009; 11: 69
- 11 母存富, 张文林, 向家勇, 杨晋平, 谢光贵. 动脉灌注化疗后手术治疗Ⅲ期贲门癌23例. 西南军医 2008; 10: 28-29
- 12 李建东, 张进荣. 中晚期贲门胃底癌介入治疗的临床体会. 中国民族民间医药 2012; 21: 80-81
- 13 殷建林, 刘海日, 黄海, 顾友梅. 介入治疗贲门癌伴肝转移24例临床观察. 实用癌症杂志 2009; 24: 621-623
- 14 李长凤. 介入治疗贲门癌伴肝转移24例临床观察. 中国社区医师(医学专业) 2010; 12: 47-48
- 15 朱明德, 张子敬, 季洪胜, 郝刚, 葛成林, 魏孔朋, 袁玉厚, 赵秀萍. 进展期胃癌介入治疗疗效分析. 介入放射学杂志 2008; 17: 136-139
- 16 刘福忠, 杨军, 钟志贵. 动脉灌注和栓塞治疗贲门癌(附21例报告). 当代医学 2009; 15: 697-698
- 17 晏志保, 尚云生, 王旭. 晚期贲门癌动脉灌注化疗的研究. 中国医药导报 2010; 7: 188-189
- 18 章俊, 谢亚敏, 武翠玲, 吴润琳, 吴克伟. 动脉化疗栓塞治疗晚期贲门癌临床观察. 中国临床药理学与治疗学 2012; 17: 562-565
- 19 郭猛. FOLFOX4方案经胃动脉灌注化疗治疗晚期贲门癌32例. 中国老年学杂志 2012; 32: 2191-2192
- 20 张维浩, 王绍奎, 高磊. 经胃左动脉灌注化疗联合FOLFOX方案治疗晚期贲门癌临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 1907-1908
- 21 王国林, 张崇高, 王秀玲. 胃左动脉介入化疗栓塞联合根治术治疗贲门癌. 包头医学院学报 2012; 28: 50-52

■同行评价

本文具有一定的临床参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

HLA-*DP*基因多态性与乙型肝炎重症化的关联性

姚津剑, 余金玲, 里进, 陈曼, 杨红, 宋起龙, 林菊生

■背景资料

HLA-*DP*参与机体免疫反应重要分子, 其基因多态性目前认为参与乙型肝炎病毒感染临床转归。本研究通过分析慢性乙型肝炎不同临床转归rs6457617遗传关联性, 发现rs6457617-CC基因具有明显肝病易感性, 进一步拓宽了HLA-*DP*遗传易感性区域, 深入了解HLA-*DP*在乙型肝炎临床转归遗传意义。

姚津剑, 海南省人民医院急诊中心 海南省海口市 570000
余金玲, 里进, 陈曼, 杨红, 宋起龙, 林菊生, 华中科技大学医学院附属同济医院肝病研究所 湖北省武汉市 430030
姚津剑, 主治医师, 主要从事肝病及危急重症的研究。
国家重点基础研究发展计划(973项目)基金资助项目, No. 2007CB512900
作者贡献分布: 姚津剑负责课题设计、数据分析及文章撰写; 姚津剑、余金玲、里进、陈曼、杨红及宋起龙从事样本收集及基因组DNA提取; 余金玲、陈曼、杨红及宋起龙完成基因分析; 林菊生全程提供指导与样本收集的协调。
通讯作者: 林菊生, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市硚口区解放大道1095号, 华中科技大学医学院附属同济医院肝病研究所. jslin@tjh.tjmu.edu
电话: 027-83662578
收稿日期: 2013-04-20 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Association of a HLA-*DP* gene polymorphism with progression of HBV infection

Jin-Jian Yao, Jin-Ling Yu, Jin Li, Man Chen, Hong Yang, Qi-Long Song, Ju-Sheng Lin

Jin-Jian Yao, Emergency Center, People's Hospital of Hainan Province, Hainan 570000, Hainan Province, China
Jin-Ling Yu, Jin Li, Man Chen, Hong Yang, Qi-Long Song, Ju-Sheng Lin, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology (HUST), Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2007CB512900

Correspondence to: Ju-Sheng Lin, Professor, Chief Physician, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology (HUST), 1095 Jiefang Dadao, Qiaokou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. jslin@tjh.tjmu.edu
Received: 2013-04-20 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To explore the association of a HLA-*DP* gene polymorphism (rs6457617) with progression of hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS: A total of 1009 subjects were enrolled in this study, including 234 asymptomatic chronic HBV carriers (ASC), 300 patients with HBV-related liver cirrhosis (LC), 300 patients with HBV-related hepatocellular carcinoma (HCC), and 175 patients with HBV-related acute liver failure (ALF). The differences in alleles and

genotype between the control (ASC) group and case groups (LC, HCC and ALF) were identified using the Taqman assay.

RESULTS: The frequencies of TT, CT and CC genotypes at the rs6457617 locus were 20%, 49.6% and 30% in the case HCC group, which were statistically different from those in the control group (TT: 26%; CT: 51.2%; CC: 22.6%) ($\chi^2 = 3.94$, $P = 0.047$, OR = 1.49). The frequency of the C allele differed significantly between the HCC group and ASC group ($\chi^2 = 4.98$, $P = 0.025$, OR = 1.21). There were no significant differences in allele frequencies and genotype distributions between the LC and ASC groups, and between the ALF and ASC groups.

CONCLUSION: The C allele at the rs6457617 locus is associated with risk of HCC, and the CC genotype confers susceptibility to HCC. The rs6457617 polymorphism might be involved in the development of HCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: HLA-*DP*; Polymorphism; Hepatitis B; Genetic susceptibility

Yao JJ, Yu JL, Li J, Chen M, Yang H, Song QL, Lin JS. Association of a HLA-*DP* gene polymorphism with progression of HBV infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2206-2211 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2206.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2206>

摘要

目的: 探讨HLA-*DP*基因区域中rs6457617多态性位点与乙型肝炎重症化遗传易感性的关系。

方法: 收集武汉地区多家医院慢性乙型肝炎无症状携带者234例、乙型肝炎源性肝硬化者300例、乙型肝炎源性肝癌者300例及乙型肝炎重症患者175例, 共1009例, 应用Taqman基因分析技术, 分析rs6457617位点基因型及等位基因在各组中的分布差异。

结果: 乙型肝炎源性肝癌者中rs6457617位点TT/

■同行评议者
白浪, 副教授, 四川大学华西医院
感染性疾病中心

CT/CC基因型频率分别为20%/49.6%/30%, 与无症状慢性乙型肝炎携带者(26%/51.2%/22.6%)比较, 基因型差异有统计学差异($\chi^2 = 3.94$, $P = 0.047$, $OR = 1.49$), 等位基因C/T频率分布频率分别为55.1%和44.8%, 而慢性乙型肝炎携带者C/T频率分别为51.7%和48.2%, 其等位基因频率同样具有明显差异($\chi^2 = 4.98$, $P = 0.025$, $OR = 1.21$). 而对比慢性乙型肝炎无症状携带者与乙型肝炎源性肝硬化患者及慢性乙型肝炎无症状携带者与乙型重型肝炎患者, 在该位点基因型及等位基因分布无统计学差异。

结论: *HLA-DP*(rs6457617)中C等位基因是增加慢性乙型肝炎患者患癌风险, *HLA-DP*(rs6457617)CC基因型是乙型肝炎源性肝癌者易感基因型. *HLA-DP*基因多态性可能参与慢性乙型肝炎患者发展成肝癌的过程。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: *HLA-DP*; 多态性; 乙型肝炎; 遗传易感性

核心提示: *HLA-DP*参与机体免疫反应重要分子, 其遗传背景遗传在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染临床转归中扮演重要作用. 本研究通过分析*HLA-DP*(rs6457617)基因型与乙型肝炎源性肝硬化、乙型肝炎源性肝癌、乙型重型肝炎遗传易感性, 发现rs6457617-CC与乙型肝炎源性肝癌遗传相关。

姚津剑, 余金玲, 里进, 陈曼, 杨红, 宋起龙, 林菊生. *HLA-DP*基因多态性与乙型肝炎重症化的关联性. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2206-2211 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2206.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2206>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个全球公共卫生安全问题, 严重危害人类健康. 全球约有20亿人曾感染过HBV, 其中3.5-4亿例为慢性HBV感染^[1]. 慢性乙型肝炎患者存在机体免疫力和病毒因素相互作用, 在临床表现为病情是反复的动态过程和临床转归的多样化^[2,3]. 慢性乙型肝炎患者可以终生病毒携带不发病, 部分患者可以进展为乙型肝炎源性肝硬化、乙型肝炎源性肝癌、乙型重型肝炎. 研究发现不仅病毒因素在慢性乙型肝炎进展过程中起作用, 同时宿主的基因遗传易感性也参与乙型肝炎慢性化和乙型肝炎源性肝硬化、乙型肝炎源性肝癌、乙型重型肝炎这样复杂疾病的发展过程^[4,5].

*HLA-DP*分子是MHC II类抗原, 为人类的主

要组织相容性复合体中一种蛋白质/肽抗原受体, *HLA-DP*在抗原提呈和免疫应答中发挥着重要作用, *HLA-DP*分子在宿主清除HBV过程中导致肝组织免疫炎症损伤, 提示*HLA-DP*基因型可能在HBV感染的慢性化和临床过程中扮演重要角色^[6,7].

鉴于*HLA-DP*基因多态性与慢性乙型肝炎的感染密切相关, 本研究进一步探讨*HLA-DP*基因多态位点rs6457617与乙型肝炎重症化表型(乙型肝炎源性肝癌、乙型肝炎源性肝硬化、乙型重型肝炎)遗传易感性的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 2007-06/2009-07在武汉地区, 同济医院、协和医院和武汉中医院按标准(表1)进行样本收集慢性乙型肝炎无症状携带组、乙型肝炎源性肝硬化组、乙型肝炎源性肝癌组和乙型重型肝炎组病例外周血样本, 共搜集乙型肝炎相关不同临床转归患者外周血样本共1009例, 其中乙型重型肝炎175例、乙型肝炎源性肝癌300例、乙型肝炎源性肝硬化300例、慢性乙型肝炎无症状携带者234例。

1.2 方法

1.2.1 位点的遴选: 本研究选取位点rs6457617, 位于*HLA-DP*下游和*HLA-DQA2*及*HLA-DQB1*基因之间区域, rs6457617位于6号染色体正链32771829等位基因, 等位基因C/T(C<T)。

1.2.2 全基因组DNA提取: 全基因组DNA提取, 采用Tiangen全基因组提取试剂盒(天根生化科技有限公司, 北京)按说明书进行提取基因组DNA, 应用Nanodrop1000进行DNA进行定量, 确保DNA纯度 $A_{260/280}$ 在1.6-1.8之间。

1.2.3 基因分析: 订购rs6457617位点Taqman genotyping assays(applied biosystems, ABI)C_30051540_30探针, 其基因分型的探针中C等位基因探针为CATATGCACAGATCTTTGTTAGTCA[C-VIC]ATCTGCTCATGGACTCAACAAACAG与T等位基因探针为ATATGCACAGATCTTTGTTAGTCA[T-FAM]ATCTGCTCATGGACTCAACAAACAG。

统计学处理 以慢性乙型肝炎无症状携带者为对照组, 分别与乙型肝炎源性肝硬化组、乙型肝炎源性肝癌组和乙型重型肝炎组比较, 比较组间等位基因频率及基因型频率, 进行 χ^2 检验. 将主要等位基因作为对照等位基因, 应用3种不同的遗传模型对遗传易感性进行发掘, 分别计算 χ^2 值、OR值以及95%CI可信区间. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

■ 研发前沿

本文分析*HLA-DP*-rs6457617基因多态性在慢性乙型肝炎感染遗传意义, 拓宽了*HLA-DP*遗传背景在慢性乙型肝炎感染转归的意义, 亟待研究的问题主要是对已发现的阳性位点进行多中心验证, 并进一步探讨其多态性位点与生物学功能的关系。

■创新盘点

本研究的重点是研究的样本覆盖了慢性乙型肝炎不同的临床转归为分析对象,更加全面的认识HLA-DP(rs6457617)位点在慢性乙型肝炎重症倾向的遗传易感性。

表 1 慢性乙型肝炎无症状携带组、乙型肝炎后肝硬化组、乙型肝炎相关性肝癌组和乙型肝炎重型肝炎组的诊断标准

慢性乙型肝炎无症状携带组

1. 既往有乙型肝炎病史或HBsAg和anti-HBc阳性持续至少6 mo;
2. 排除其他嗜肝性病毒的感染;
3. 肝功能指标正常值,既往无因乙型肝炎住院病史,在随访的过程中无乙型肝炎相关症状
4. 无肝硬化和肝癌的临床证据和影像学证据
5. 年龄在35岁以上

乙型肝炎源性肝硬化

1. 既往有乙型肝炎病史或HBsAg和anti-HBc阳性持续至少6 mo;
2. anti-HCV和HIV阴性;
3. 有肝硬化的临床证据: 胃食管静脉曲张或有出血、腹水;
4. 影像学(B超、CT、MRI)证实无肝占位病变

乙型肝炎源性肝癌

1. 既往有乙型肝炎病史或HBsAg和anti-HBc阳性持续至少6 mo;
2. 组织活检证明有肝癌; 或AFP上升且影像学检查(超声或CT或MRI)提示肝癌

乙型肝炎重型肝炎

1. 既往有乙型肝炎病史或HBsAg和anti-HBc阳性持续至少6 mo;
2. 凝血国际化标准比值INR>1.5, 胆红素大于正常值上限10倍. B超提示无硬化, 肝癌和药物性肝损伤、酗酒、遗传代谢性疾病;
3. 排除合并其他嗜肝病毒和HIV感染. 同时排除Wilson、Budd-Chiari综合征;
4. 影像学提示无肝硬化肝癌;
5. 病程<12 wk

HBsAg: 乙肝表面抗原; HIV: 艾滋病; HCV: 丙型肝炎病毒; CT: 计算机断层成像; MRI: 磁共振成像。

表 2 样本流行病学特征

	<i>n</i>	年龄 (岁)	男性 <i>n</i> (%)	吸烟 (从不: 从前: 现在)	饮酒 (从不: 从前: 现在)
慢性乙型肝炎无症状携带者	234	47.8 ± 7.9	156(66.6)		
乙型肝炎源性肝硬化	300	46.5 ± 10.1	248(82.6)	185: 67: 48	193: 73: 34
乙型肝炎源性肝癌	300	47.0 ± 10.0	268(89.3)	175: 69: 56	207: 54: 38
乙型肝炎重型肝炎	175	38.6 ± 11.3	154(88.0)	122: 19: 34	132: 22: 21

2 结果

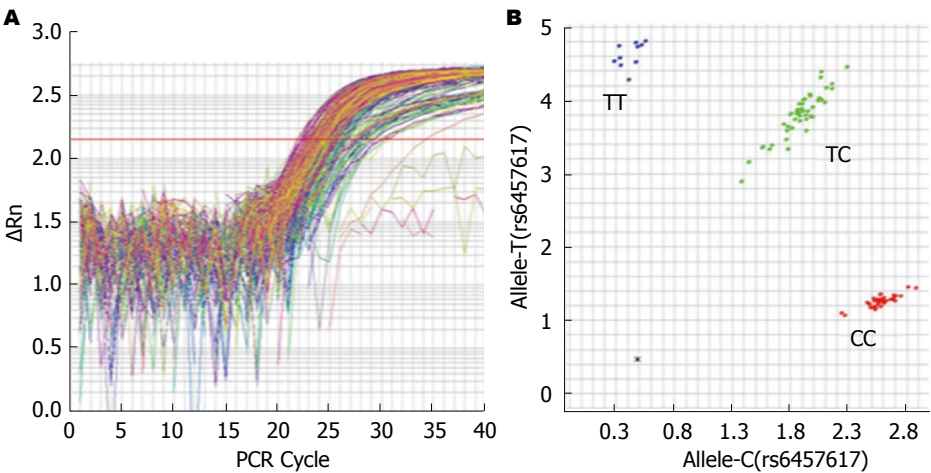
2.1 流行病学特征 通过拟定的标准进行样本收集,发现样本中急性肝功能衰竭患者中,患者年龄38.6岁±11.3岁,较肝硬化及肝癌发病年龄较早,而肝硬化患者的发病年龄46.5岁±10.1岁与肝癌发病年龄47.0岁±10.0岁无明显差别. 与其他相关研究相同,男性在乙型肝炎重型肝炎占比例为88%、乙型肝炎源性肝硬化占82.6%、乙型肝炎源性肝癌占89%. 男性为乙型肝炎重症化的独立危险因素(表2).

2.2 rs6457617中亚裔人群分布的频率 在亚裔人群中中等位基因及基因型分布(表3), CC基因型在中国北京人群中频率最高,而C等位基因在中国北京人及丹佛中国裔较高.

2.3 rs6457617基因分析结果 设置反应的条件如下,

2×Taqman genotyping master mix(ABI)2.5 μL, 20×SNP genotyping assay mix(ABI)0.25 μL, 模板DNA 2.25 μL. PCR反应条件95℃ 10 min, 95℃变性15 s, 60℃延长90 s. 共40个循环,完成后读取荧光信号完成基因分型(图1).

2.4 rs6457617与乙型肝炎重症化遗传易感性 对比慢性乙型肝炎无症状携带者与各病例组中rs6457617等位基因及基因型频率的差异,发现rs6457617在显性遗传模型(dominant model)中CC基因型与乙型肝炎源性肝细胞癌明显相关性($\chi^2 = 3.94$, $P = 0.047$, OR = 1.49)(表4). C等位基因是慢性乙型肝炎发展成肝癌的易感性基因($\chi^2 = 4.98$, $P = 0.025$, OR = 1.21)(表5). 同时分析慢性乙型肝炎无症状携带与乙型肝炎源性肝硬化和慢性乙型肝炎无症状携带与乙型肝炎重型肝炎的



■应用要点
本研究结果将应用于慢性乙型肝炎高危人群进行遗传背景筛查, 同时对HLA-DP(rs6457617)功能学研究及治疗靶点开发, 将有利于本研究结果进一步应用。

图 1 rs6457617位点Taqman基因分型图. A: PCR基因扩增图; B: 基因分型图, 蓝色为TT基因型; 红色为CC基因型; 绿色为TC基因型.

表 3 亚洲人群分布的rs6457617位点基因型及等位基因频率 (hapmap)

人群	Genotype-CC	Genotype-CT	Genotype-TT	Allele C	Allele-T
中国北京人群	0.241	0.460	0.299	0.471	0.529
丹佛中国裔	0.138	0.578	0.284	0.427	0.573
日本人群	0.150	0.469	0.381	0.385	0.615

表 4 各组中rs6457617基因型频率

	基因型(n)			P_{dominant} 值	OR(95%CI)
	TT	TC	CC		
慢性乙型肝炎无症状携带者	61	120	53		
乙型肝炎源性肝硬化	69	155	76	0.472	1.16[0.76-1.77]
乙型肝炎源性肝癌	60	149	91	0.047	1.49[0.99-2.25]
乙型重型肝炎	55	89	31	0.221	0.74[0.43-1.23]

表 5 各组中rs6457617等位基因频率

	等位基因(n)		P 值	OR[95%CI]
	T	C		
慢性乙型肝炎无症状携带者	242	226		
乙型肝炎源性肝硬化	293	307	0.231	1.12[0.87-1.44]
乙型肝炎源性肝癌	269	331	0.025	1.21[1.03-1.69]
乙型重型肝炎	199	151	0.143	1.23[0.92-1.64]

遗传相关性, 未发现明显的遗传易感性.

3 讨论

HBV感染的结局在很大程度上取决于个体的对于病毒的免疫过程. 免疫反应不同进而出现不同的临床过程和表型(慢性乙型肝炎无症状携带组、乙型肝炎源性肝硬化组、乙型肝炎源性肝

癌组和乙型重型肝炎组), 其中乙型肝炎源性肝癌和乙型重型肝炎死亡率高^[8,9].

现有的研究提示宿主的免疫遗传背景在乙型肝炎重症化过程中起着重要作用^[10-12]. HLA是迄今所知最复杂、多态性最高的免疫相关遗传系统^[13,14], 在人类的免疫应答反应中起着十分重要的作用. HLA-II类基因分为经典HLA-DP、

■同行评价

本文对临床上的一个很重要的问题进行研究,收集了大量的乙型肝炎不同临床进展资料,数据真实可信,结论可靠,具有一定的指导意义。

-DQ、-DR和非经典的HLA-DM、-DO两类。HLA-DP由组成2个亚基, DP α 和DP β 的抗原. α 链和 β 链的远膜区有一个抗原结合槽(antigen binding cleft), 因此可以推测HLA-DP基因的多态性可导致了抗原结合槽的构象、结合及递呈抗原肽给T细胞的效率不同, 从而影响着HBV感染的慢性化和免疫反应的强弱, 免疫反应强弱影响肝细胞损害的范围及程度, 因而其多态性明显影响着HBV感染后的免疫应答过程中的个体差异^[15-17]。

目前国内外大量研究表明HLA-DRB1、HLA-DQB1基因区域的某些多态性位点与个体更易导致感染HBV慢性化。Kamatani等在全基因组关联分析联合阳性位点的跨地域的多中心验证发现亚洲人群中, HLA-DP(rs3077、rs9277535)位点的变异与慢性乙型肝炎感染密切相关^[6,7], 其遗传易感性在后续的样本验证中得到了证实。也发现HLA-DP/DQ区域多态性位点与肝细胞癌具有相关性^[18,19]。由于rs6457617位于HLA-DP下游, 推测其功能可能是通过调节HLA-DP转录后的修饰改变其功能, 从而影响慢性乙型肝炎患者成癌风险。

本研究中在研究设计阶段, 对研究对象选择条件严加限制, 确保被研究对象间基因型与表型(genotype-phenotype)有直接关系, 主要通过控制了病例和对照的年龄范围, 在人群筛选上选择了祖籍湖北地区人群, 其中主要的研究对象来自湖北地区, 气候因素、饮食、文化及生活习俗均相近, 调研相关流行病学资料来看, 健康人群的吸烟率和饮酒率较相似, 生活习惯也较接近, 排除了已知的混杂因素, 在流行病学调查的材料统计分析中可以看到, 吸烟和饮酒在是与否的频率分布上没有显著的差异, 由于本研究选用对照为慢性无症状乙型肝炎患者, 该群体可能是在一个特定的人群, 具有特定遗传背景, 因而在遗传背景可能存在不平衡的可能, 不能单用hardy-Weinberg检验分析对照组是否来源同一群体。该不研究不足地方未完成多中心的验证, 未来对于HLA-DP乙型肝炎重症化易感性位点和疾病表型的机制研究将有利于全方位的阐述其功能在慢性乙型肝炎临床转归的意义。为评估慢性乙型肝炎患者的预后提供理论依据, 并为开辟新的治疗方法提供可能的作用靶点。

4 参考文献

- Lai CL, Yuen MF. Chronic hepatitis B--new goals, new treatment. *N Engl J Med* 2008; 359: 2488-2491 [PMID: 19052131 DOI: 10.1056/NEJMe0808185]

- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539 [PMID: 17256718 DOI: 10.1002/hep.21513]
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662 [PMID: 19714720 DOI: 10.1002/hep.23190]
- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]
- McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S45-S55 [PMID: 19399792 DOI: 10.1002/hep.22898]
- Kamatani Y, Watanapokayakit S, Ochi H, Kawaguchi T, Takahashi A, Hosono N, Kubo M, Tsunoda T, Kamatani N, Kumada H, Puseenam A, Sura T, Daigo Y, Chayama K, Chantratita W, Nakamura Y, Matsuda K. A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nat Genet* 2009; 41: 591-595 [PMID: 19349983 DOI: 10.1038/ng.348]
- Guo X, Zhang Y, Li J, Ma J, Wei Z, Tan W, O'Brien SJ. Strong influence of human leukocyte antigen (HLA)-DP gene variants on development of persistent chronic hepatitis B virus carriers in the Han Chinese population. *Hepatology* 2011; 53: 422-428 [PMID: 21274863 DOI: 10.1002/hep.24048]
- El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012; 142: 1264-1273.e1 [PMID: 22537432]
- Liu C, Wang YM, Fan K. Epidemiological and clinical features of hepatitis B virus related liver failure in China. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3054-3059 [PMID: 21799653 DOI: 10.3748/wjg.v17.i25.3054]
- Deng G, Zhou G, Zhang R, Zhai Y, Zhao W, Yan Z, Deng C, Yuan X, Xu B, Dong X, Zhang X, Zhang X, Yao Z, Shen Y, Qiang B, Wang Y, He F. Regulatory polymorphisms in the promoter of CXCL10 gene and disease progression in male hepatitis B virus carriers. *Gastroenterology* 2008; 134: 716-726 [PMID: 18325387 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.12.044]
- Dong X, Zhou G, Zhai Y, Zhang H, Yang H, Zhi L, Zhang X, Chu J, He F. Association of DLC1 gene polymorphism with susceptibility to hepatocellular carcinoma in Chinese hepatitis B virus carriers. *Cancer Epidemiol* 2009; 33: 265-270 [PMID: 19766077 DOI: 10.1016/j.canep.2009.08.011]
- Lei RX, Shi H, Peng XM, Zhu YH, Cheng J, Chen GH. Influence of a single nucleotide polymorphism in the P1 promoter of the furin gene on transcription activity and hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 50: 763-771 [PMID: 19492430 DOI: 10.1002/hep.23062]
- [2nd International Cancer Symposium. Beijing, 18-20 May 1990]. *Internist (Berl)* 1990; 31: 1-16 [PMID: 1976607]
- de Bakker PI, McVean G, Sabeti PC, Miretti MM, Green T, Marchini J, Ke X, Monsuur AJ, Whittaker P, Delgado M, Morrison J, Richardson A, Walsh EC, Gao X, Galver L, Hart J, Hafler DA, Pericak-Vance M, Todd JA, Daly MJ, Trowsdale J, Wijmenga C, Vyse TJ, Beck S, Murray SS, Carrington M, Gregory S, Deloukas P, Rioux JD. A high-resolution HLA and SNP haplotype map for disease association studies in the extended human MHC. *Nat Genet* 2006; 38: 1166-1172 [PMID: 16998491 DOI: 10.1038/ng1885]

- 15 Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, Sun Y, Xuan SY. Association between HLA-DRB1 alleles polymorphism and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 145 [PMID: 21172035 DOI: 10.1186/1471-230X-10-145]
- 16 Liu C, Cheng B. Association of polymorphisms of human leukocyte antigen-DQA1 and DQB1 alleles with chronic hepatitis B virus infection, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in Chinese. *Int J Immunogenet* 2007; 34: 373-378 [PMID: 17845309 DOI: 10.1111/j.1744-313X.2007.00702.x]
- 17 Wang C, Tang J, Song W, Lobashevsky E, Wilson CM, Kaslow RA. HLA and cytokine gene polymorphisms are independently associated with responses to hepatitis B vaccination. *Hepatology* 2004; 39: 978-988 [PMID: 15057902 DOI: 10.1002/hep.20142]
- 18 Hu L, Zhai X, Liu J, Chu M, Pan S, Jiang J, Zhang Y, Wang H, Chen J, Shen H, Hu Z. Genetic variants in human leukocyte antigen/DP-DQ influence both hepatitis B virus clearance and hepatocellular carcinoma development. *Hepatology* 2012; 55: 1426-1431 [PMID: 22105689 DOI: 10.1002/hep.24799]
- 19 Jiang DK, Sun J, Cao G, Liu Y, Lin D, Gao YZ, Ren WH, Long XD, Zhang H, Ma XP, Wang Z, Jiang W, Chen TY, Gao Y, Sun LD, Long JR, Huang HX, Wang D, Yu H, Zhang P, Tang LS, Peng B, Cai H, Liu TT, Zhou P, Liu F, Lin X, Tao S, Wan B, Sai-Yin HX, Qin LX, Yin J, Liu L, Wu C, Pei Y, Zhou YF, Zhai Y, Lu PX, Tan A, Zuo XB, Fan J, Chang J, Gu X, Wang NJ, Li Y, Liu YK, Zhai K, Zhang H, Hu Z, Liu J, Yi Q, Xiang Y, Shi R, Ding Q, Zheng W, Shu XO, Mo Z, Shugart YY, Zhang XJ, Zhou G, Shen H, Zheng SL, Xu J, Yu L. Genetic variants in STAT4 and HLA-DQ genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2013; 45: 72-75 [PMID: 23242368 DOI: 10.1038/ng.2483]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

胆囊区肝癌射频治疗联合LC手术安全性评估

赵希学, 由法平, 袁庆忠, 潘国政, 卜庆敖, 郝龙, 张建

■背景资料

手术切除一直是肝细胞肝癌的首选治疗手段, 在我国肝癌患者多为高龄, 常伴有高血压、心脏病等慢性疾病, 耐受手术能力差, 微创治疗显得尤为重要, 由于射频消融热效率高, 升温快, 凝固坏死彻底, 受血流影响较小, 且对于小肝癌, 射频消融与手术切除可取得相同的治疗效果, 逐渐成为肝癌的另一种重要治疗手段, 但对于毗邻胆囊、肝门部、大血管等特殊部位的肝癌, 其安全性及有效性一直存在较大争议。

赵希学, 由法平, 袁庆忠, 潘国政, 卜庆敖, 郝龙, 张建, 胜利油田中心医院 山东省东营市 257034

赵希学, 主任医师, 主要从事肝癌的诊断和治疗。

作者贡献分布: 由法平负责数据统计与文章撰写; 潘国政、卜庆敖、郝龙及张建负责文章数据的收集; 赵希学与袁庆忠负责文章的审阅和修改。

通讯作者: 袁庆忠, 主任医师, 257034, 山东省东营市济南路31号, 胜利油田中心医院, dyqz@126.com

收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-06-06

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Safety and effectiveness of radiofrequency combined with laparoscopic cholecystectomy in management of liver cancer near the gallbladder

Xi-Xue Zhao, Fa-Ping You, Qing-Zhong Yuan,
Guo-Zheng Pan, Qing-Ao Bu, Long Hao, Jian Zhang

Xi-Xue Zhao, Fa-Ping You, Qing-Zhong Yuan, Guo-Zheng Pan, Qing-Ao Bu, Long Hao, Jian Zhang, Shengli Oilfield Central Hospital, Dongying 257034, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing-Zhong Yuan, Chief Physician, Shengli Oilfield Central Hospital, 31 Jinan Road, Dongying 257034, Shandong Province, China. dyqz@126.com

Received: 2013-05-24 Revised: 2013-06-06

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To assess the safety and effectiveness of radiofrequency in combination with laparoscopic cholecystectomy (LC) in the management of liver cancer near the gallbladder.

METHODS: Twelve patients with liver cancer near the gallbladder and 27 patients with liver cancer far from the gallbladder, who were treated at our hospital from January 2006 to May 2011, were included in this retrospective study. Patients with liver cancer near the gallbladder underwent laparoscopic resection of gallbladder before ultrasound-guided radiofrequency ablation (combination group), while patients with liver cancer far from the gallbladder underwent ultrasound-guided radiofrequency ablation directly (control group). Preoperative clinical data, postoperative hospital stay, complication rate and overall survival were compared between the two groups.

RESULTS: The changes in liver function parameters between before and after surgery had no significant difference between the two groups of patients (all $P > 0.05$). There were also no statistically significant differences in hospitalization time and incidence of postoperative complications between the two groups (both $P > 0.05$). The difference in operative time was statistically significant between the two groups ($P < 0.01$). The tumor necrosis rate after radiofrequency was 91.7% (11/12) in the combination group and 86.4% (19/22) in the latter group. The 5-year survival rate was similar between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Radiofrequency combined with laparoscopic gallbladder excision is a safe and effective treatment for liver cancer near the gallbladder.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer; Radiofrequency treatment; Laparoscopic cholecystectomy

Zhao XX, You FP, Yuan QZ, Pan GZ, Bu QA, Hao L, Zhang J. Safety and effectiveness of radiofrequency combined with laparoscopic cholecystectomy in management of liver cancer near the gallbladder. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2212-2216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2212.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2212>

摘要

目的: 探讨胆囊区肝癌射频治疗联合腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy, LC)手术安全性及有效性。

方法: 选取我院2006-01/2011-05, 12例胆囊区的肝癌和27例非胆囊区的肝癌, 前者行腹腔镜胆囊切除后再行B超引导或直视下射频消融治疗, 后者行B超引导射频消融治疗, 进行回顾性分析两组患者术前术后的临床资料, 住院时间、并发症发生率和总体生存率情况。

结果: 通过统计分析患者手术前后的肝功能结果发现, 两组患者术前、术后肝功能变化差

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 郑州大学第二附属医院消化科

异无统计学意义(均 $P>0.05$), 两组患者在住院时间及术后并发症的发生率上差异无统计学意义(均 $P>0.05$), 在手术时间上差异有统计学意义($P<0.01$), 射频后肿瘤的坏死率, 胆囊旁组91.7%(11/12), 非胆囊旁组86.4%(19/22), 随访5年, 排除删失数据对结果的影响后发现两组5年生存率差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: 对于胆囊区的肝癌, 肝癌射频治疗联合腹腔镜下胆囊切除, 有效避免了因射频消融引起的迟发型胆囊坏死穿孔, 手术安全, 长期随访疗效可靠.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝癌; 射频治疗; 腹腔镜胆囊切除术

核心提示: 腹腔镜下操作, 可发现术前影像学未发现肿物, 避免损伤空腔脏器, 全麻下治疗, 患者痛苦减少, 治疗彻底; 腹腔镜胆囊切除术应用广泛, 射频消融治疗肝癌, 风险小, 操作方便, 两者有机结合, 手术安全, 疗效可靠, 该技术可推广至基层医院开展.

赵希学, 由法平, 袁庆忠, 潘国政, 卜庆敖, 郝龙, 张建. 胆囊区肝癌射频治疗联合LC手术安全性评估. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2212-2216 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2212.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2212>

0 引言

原发性肝癌是世界上第5大常见恶性肿瘤, 其死亡率居世界第3位^[1], 随着人寿命的延长肝癌的发病率也呈逐年上升的趋势^[2]. 手术切除一直是肝细胞肝癌的首选治疗手段^[3,4], 在我国肝癌患者多为高龄, 常伴有高血压、心脏病等慢性疾病, 耐受手术能力差. 因此, 微创治疗显得尤为重要, 由于射频消融热效率高, 升温快, 凝固坏死彻底, 受血流影响较小, 且对于小肝癌, 射频消融与手术切除可取得相同的治疗效果^[5-7], 逐渐成为肝癌的另一种重要治疗手段. 但对于毗邻胆囊、肝门部、大血管等特殊部位的肝癌, 其安全性及有效性一直存在争议^[8,9]. 近年来, 对于毗邻胆囊的肝癌报道逐渐增多^[10,11], 但其治疗方法不一, 疗效及安全性无统一论, 手术技巧要求高, 临床上开展存在一定难度. 本课题通过回顾性分析比较胆囊区和非胆囊区的肝癌患者的临床资料、住院时间、并发症发生率和总体生存率情况, 来评估肝癌射频治疗联合腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy, LC)手

术安全性及有效性.

1 材料和方法

1.1 材料 采用回顾性分析研究, 选取我院肝胆外科2006-01/2011-06收治的200余例肝癌患者中选取12例毗邻胆囊区, 27例非胆囊区的肝癌. 术前诊断标准依据欧洲肝脏研究协会(EASL)指南. 病例纳入标准: (1)患者术前未接受其他抗癌治疗; (2)直径 ≤ 5 cm的单发肿瘤或最大直径 ≤ 3 cm的3个以内的多发肿瘤; (3)无癌栓; (4)肝功能Child-Pugh A或B级的患者, 或为C级, 但经积极保肝治疗后转为B或A级; (5)无严重心、脑、肾等严重器官功能障碍; (6)不愿意接受手术治疗的, 自愿接受微创治疗的患者. 射频治疗仪为美国Tyco Healthcare公司生产, 型号为CTRF-220, 治疗系统的输出功率为1-220 W \pm 15%, 其射频频率为: 480 kHz \pm 3%, 温度检测范围为10 $^{\circ}$ C-99 $^{\circ}$ C, 系统的阻抗检测范围为: 10-1000 ohms, 专用电极包括单束射频电极和集束射频电极, 电极内部冷循环水流动, 有效地减少了临近组织的损伤, 该系统单次治疗的直径 >5 cm, 消融时间为12 min.

1.2 方法

1.2.1 手术: (1)腹腔镜联合B超引导下肝脏肿瘤射频消融组(A组): 仰卧位, 力月西+罗库溴胺+丙泊酚+舒芬太尼诱导麻醉, 气管插管全麻后丙泊酚+瑞芬太尼+罗库溴胺维持麻醉(具体药物计量根据患者身高体重调整), 全麻成功后建立CO₂气腹, 腹腔镜下探查肝脏及腹腔情况, 三孔法行腹腔镜胆囊切除术, 若肿瘤位于胆囊床表面则直视下行射频消融治疗, 若切除胆囊后不能显示肿瘤, 则去除气腹, B超引导选取肿瘤最大切面, 决定进针路线, 射频针植入肿瘤内部, 功率设定在100 W, 治疗时间为12 min, 超声下见目标区域被高回声覆盖, 治疗结束, 复温60 s至90 $^{\circ}$ C, 拔除射频针, 记录手术时间; (2)B超引导下射频消融组(B组): 仰卧位, 力月西+罗库溴胺+丙泊酚+舒芬太尼诱导麻醉, 气管插管全麻后丙泊酚+瑞芬太尼+罗库溴胺维持麻醉(具体药物计量根据患者身高体重调整). 麻醉成功后, B超定位, 选取肿瘤最大切面, 决定进针路线, 射频仪功率设定在100 W, 治疗时间为12 min, 超声下见目标区域被高回声覆盖后治疗结束, 复温60 s至90 $^{\circ}$ C, 拔除射频针, 记录手术时间.

A、B两组患者术后统一去麻醉恢复室复苏清醒后回病房, 整个治疗期间患者无痛苦, 心电图监护心率血压均较平稳.

■ 研发前沿

对于毗邻胆囊的肝癌治疗方法不一, 疗效及安全性无统一论, 手术技巧要求高, 临床上开展存在一定难度.

■ 相关报道

刘建勇等, 超声引导下经皮微波消融治疗邻近危险区域肝癌临床观察; 田虎等, 腹腔镜辅助射频消融术治疗特殊部位肝癌的研究; 方和平等, 腹腔镜下胆囊旁肝癌的微波消融治疗; Chopra等, 对于毗邻胆囊的肝癌射频治疗的安全性及可行性研究; 霍苓等, 胆囊旁肝肿瘤射频消融治疗附加方法及疗效.

■创新盘点

对于胆囊区的肝癌, 肝癌射频治疗联合腹腔镜下胆囊切除, 手术安全, 疗效可靠。

表 1 患者临床病例资料

	胆囊旁组(A组)	非胆囊旁组(B组)	P值
性别(男/女)	9/3	15/7	0.688
年龄(岁)	64.4(58-77)	62.9(42-79)	0.566
HBsAg(+)	7	11	-
HCVAb(+)	2	3	-
△总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	13.17 \pm 8.93	9.90 \pm 10.06	0.354
△白蛋白(g/L)	5.68 \pm 5.09	5.25 \pm 3.25	0.322
△ALT(U/L)	162.25 \pm 86.95	160.41 \pm 94.19	0.956
△AST(U/L)	157.58 \pm 103.97	205.23 \pm 149.12	0.334
肿瘤数目			
单发	9	17	-
多发	3	5	-
肿瘤大小(cm)			
<2	1	4	-
2-5	14	23	-
AFP($\mu\text{g/L}$)			
<20	6	7	-
>20	6	15	-

△总胆红素 = 术前总胆红素-术后24 h总胆红素; △白蛋白 = 术前白蛋白-术后24 h白蛋白;
△ALT = 术前ALT-术后24 h ALT; △AST = 术前AST-术后24 h AST; “-”: 未统计两组差异。
ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; AFP: 甲胎蛋白。

1.2.2 观察项目及疗效评价: 术前及术后24 h白蛋白、谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT)、谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)、总胆红素变化; 术后住院时间; 术后并发症情况, 术后1 mo复查肝脏增强CT, 动脉期无增强表示肿瘤毁损完全, 无复发; 以后第1年每3 mo复查一次, 以后每半年复查1次, 内容包括肝功能、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、肝脏增强CT, 如复发记录继续治疗情况。记录患者1、2、3、5年总体生存率情况。

统计学处理 计量资料采用mean \pm SD表示, 组间计量资料采用t检验 (one-way ANOVA, LSD method), 用Kaplan-Meier曲线评估事件的累计发生率, Log-rank test比较总体生存率。应用SPSS18.0软件统计分析, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病历资料 A、B两组患者临床病例资料如表1, 两组患者在性别、年龄上差别无统计学差异, 在手术前后胆红素、白蛋白、ALT、AST的变化差异上差别无统计学差异。

2.2 手术时间、住院天数及术后并发症情况 A、B两组在手术时间分别为137.50 min \pm 20.17 min

和81.95 min \pm 38.14 min, 差别有统计学意义($P < 0.01$)(图1A), 考虑与手术切除胆囊所增加的时间有关; A、B两组患者住院天数分别为8.42 d \pm 2.11 d和8.36 d \pm 3.39 d, 差异无明显统计学意义($P = 0.961$)(图1B)。

在并发症发生例数上差异无统计学意义($P = 0.675$)。其中A组患者中有4例患者出现发热, 3例患者出现腹痛, 1例出现大量腹水, 均对症处理后好转, 1例患者术后20 d胆道感染, 经保守治疗后好转出院, 所有患者均无严重并发症出现; B组患者中有6例患者出现发热, 2例出现大量腹水伴发热, 1例出现腹痛伴发热, 1例患者术后7 d为预防复发行介入治疗, 1例患者出院3 d后因上消化道大出血再次入院, 经保守治疗后好转出院。

2.3 复发情况及生存分析 术后1 mo行增强CT扫描检查, 肿瘤坏死率为: A组91.7%(11/12), B组86.4%(19/22), 两组患者治疗坏死率相差较大。1 mo后复查AFP, A组中术前阳性者6例, 有5例降至正常, 1例明显下降, B组中术前阳性者15例, 有13例降至正常, 2例明显下降。复发的患者有1例行介入治疗, 3例再次行射频治疗。随访5年, 其中A组中位生存时间为29.00 mo \pm 3.46 mo, B组中位生存时间为30.00 mo \pm 4.51 mo, 两组患者在5年内总体生存率上差异无统计学意义($P > 0.05$, 图2)。

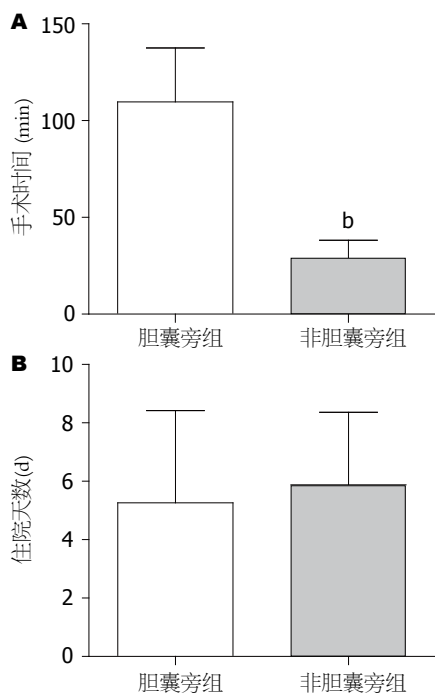


图1 胆囊旁组与非胆囊旁组患者在手术时间和住院天数的比较. A: 手术时间; B: 住院天数. ^b $P<0.01$ vs 胆囊旁组.

3 讨论

射频消融治疗肝癌, 热效率高, 容易控制, 可直接作用于肿瘤, 安全、微创、可反复使用, 现在已成为一种微创的肝脏肿瘤的主要治疗方法, 近十几年来在国内外发展迅速. 有报道^[12-15], 可行腹腔镜辅助射频消融, 对于临近胆囊的肝癌可直视下控制进针方向和角度, 进行射频治疗; 陈敏华报告通过在胆囊床注水后, 再行射频治疗; 也可先行腹腔镜切除胆囊后再行肝癌射频消融, 治疗效果相差不大. 由于我国大部分肝癌患者均合并乙型肝炎肝硬化, 肝脏储备功能较差, 部分患者虽然术前评估为Child-Pugh A或B级, 但手术创伤可能对肝脏造成巨大的打击, 射频消融作为一种微创肝癌治疗方法, 创伤小, 对患者肝功能几乎无影响, 在临床上已应用十几年, 事实证明其安全可靠, 但对于腹腔镜切除胆囊后再行肝癌射频治疗, 其手术安全性尚未见系统报道, 本研究就腹腔镜胆囊切除联合肝癌射频治疗的安全性进行进一步阐述.

本研究将入选病例分为胆囊区组和非胆囊区组, 通过统计分析患者手术前后的肝功能结果发现, 两组患者术前、术后肝功能变化差异无统计学意义(均 $P>0.05$), 两组患者在住院时间上及术后并发症的发生率上差异无统计学意义(均 $P>0.05$), 在手术时间上差异有统计学意义($P<0.01$), 考虑为腹腔镜切除胆囊增加的手术时

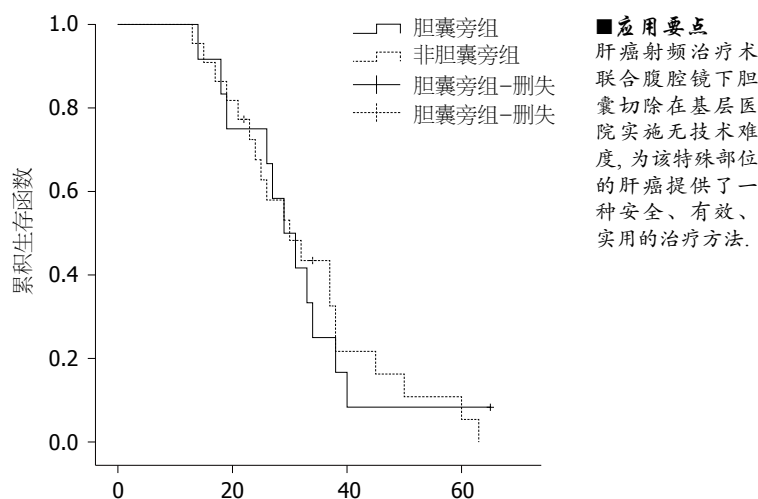


图2 胆囊旁组、非胆囊旁组两组患者在生存时间的比较.

间, 但增加手术的时间对患者肝功能、住院时间及术后并发症的发生率无影响. 射频后肿瘤的坏死率, 胆囊旁组91.7%(11/12), 非胆囊旁组86.4%(19/22), 两组患者治疗坏死率相差较大其原因可能为: (1)腹腔镜切除胆囊后, 消除射频对胆囊损伤的顾虑, 直视下销毁癌灶, 治疗更彻底, 效果更可靠; (2)可能与胆囊旁组患者样本较少有关, 若增加样本统计量两组患者差异可能会减小. 随访5年, 排除删失数据对结果的影响后发现两组5年生存率差异无统计学意义($P>0.05$). 对于毗邻胆囊的肝脏恶性肿瘤, 我们治疗体会是: (1)直视下, 视野更加清晰, 可发现术前影像学检查无法发现的肿物; 同时避免损伤其他空腔脏器如结肠、胃、十二指肠; (2)全麻下治疗, 减轻了患者手术的痛苦, 治疗更加彻底; (3)腹腔镜下胆囊切除术已在基层医院开展, 射频消融治疗肝癌, 风险小, 操作方便, 两者有机结合, 可将该技术的使用范围扩展到基层医院.

总之, 对于胆囊区的肝癌, 肝癌射频治疗联合腹腔镜下胆囊切除, 手术安全, 疗效可靠, 在基层医院实施无技术难度, 为该特殊部位的肝癌提供了一种安全、有效、实用的治疗方法. 但对于年龄大、体质差、不能耐受手术毗邻大血管、肝门区的等特殊部位的肝癌, 如何有效的进行射频治疗是我们进一步探索的方向.

4 参考文献

- Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917 [PMID: 14667750]
- McKenna RJ. Clinical aspects of cancer in the elderly. Treatment decisions, treatment choices, and follow-up. *Cancer* 1994; 74: 2107-2117 [PMID: 8087778]

应用要点
肝癌射频治疗联合腹腔镜下胆囊切除在基层医院实施无技术难度, 为该特殊部位的肝癌提供了一种安全、有效、实用的治疗方法.

■同行评价

本文立足临床,有一定的临床应用价值。

- 3 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会, 中华医学会肝病学会肝癌学组. 原发性肝癌规范化诊治专家共识. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 259-269
- 4 Müller C. Hepatocellular carcinoma--rising incidence, changing therapeutic strategies. *Wien Med Wochenschr* 2006; 156: 404-409 [PMID: 16937043]
- 5 Kobayashi M, Ikeda K, Kawamura Y, Hosaka T, Sezaki H, Yatsuji H, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Randomized controlled trial for the efficacy of hepatic arterial occlusion during radiofrequency ablation for small hepatocellular carcinoma--direct ablative effects and a long-term outcome. *Liver Int* 2007; 27: 353-359 [PMID: 17355457]
- 6 Ohmoto K, Yoshioka N, Tomiyama Y, Shibata N, Kawase T, Yoshida K, Kuboki M, Yamamoto S. Thermal ablation therapy for hepatocellular carcinoma: comparison between radiofrequency ablation and percutaneous microwave coagulation therapy. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 651-654 [PMID: 17086861]
- 7 Lencioni R, Crocetti L. Radiofrequency ablation of liver cancer. *Tech Vasc Interv Radiol* 2007; 10: 38-46 [PMID: 17980317]
- 8 Ohmoto K, Yoshioka N, Tomiyama Y, Shibata N, Kawase T, Yoshida K, Kuboki M, Yamamoto S. Radiofrequency ablation versus percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinomas: a retrospective comparative study. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 985-989 [PMID: 17629022]
- 9 Wang ZL, Liang P, Dong BW, Yu XL, Yu de J. Prognostic factors and recurrence of small hepatocellular carcinoma after hepatic resection or microwave ablation: a retrospective study. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 327-337 [PMID: 17943391]
- 10 李猛, 于晓玲, 梁萍, 曹晓林, 范瑾, 刘方义. 超声引导下经皮微波消融对紧邻胆囊肝癌的临床研究. 癌症进展杂志 2008; 6: 172-176
- 11 刘建勇, 陆伟, 周永和, 曹弘波, 周国强, 曹智. 超声引导下经皮微波消融治疗邻近危险区域肝癌临床观察. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 27-29
- 12 田虎, 付真, 刘竞芳, 李杰, 徐宗珍, 刘锋, 王兴国. 腹腔镜辅助射频消融术治疗特殊部位肝癌的研究. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 901-904
- 13 方和平, 邓美海, 潘卫东, 任杰, 郑荣琴, 许瑞云. 腹腔镜下胆囊旁肝癌的微波消融治疗. 岭南现代临床外科 2007; 7: 401-403
- 14 Chopra S, Dodd GD, Chanin MP, Chintapalli KN. Radiofrequency ablation of hepatic tumors adjacent to the gallbladder: feasibility and safety. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 697-701 [PMID: 12591677]
- 15 霍苓, 陈敏华, 严昆, 张晖, 高文, 杨薇, 戴莹, 黄信孚. 胆囊旁肝肿瘤射频消融治疗附加方法及疗效. 中华超声影像学杂志 2005; 14: 437-440

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

床边急诊ERCP在重症急性胆源性胰腺炎治疗中的应用16例

袁帅, 孙大勇

袁帅, 南方医科大学附属小榄医院消化科 广东省中山市 528415

孙大勇, 中国人民解放军广州军区广州总医院消化科 广东省广州市 510010

袁帅, 副主任医师, 主要从事胃肠与胆胰疾病内镜下的诊断与治疗。

作者贡献分布: 本研究由孙大勇与袁帅设计; 研究过程由孙大勇与袁帅完成; 数据分析与论文写作由袁帅完成。

通讯作者: 袁帅, 副主任医师, 528415, 广东省中山市小榄镇菊城大道中65号, 南方医科大学附属小榄医院消化科。

yuanshuaishuai888@126.com

电话: 0760-22252532

收稿日期: 2013-04-21 修回日期: 2013-06-16

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Application of bedside emergency ERCP in the treatment of severe acute biliary pancreatitis

Shuai Yuan, Da-Yong Sun

Shuai Yuan, Department of Gastroenterology, Xiaolan Hospital Affiliated to Southern Medical University, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China

Da-Yong Sun, Department of Gastroenterology, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, Guangdong Province, China

Correspondence to: Shuai Yuan, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiaolan Hospital Affiliated to Southern Medical University, 65 Xiaolanzhen Jucheng Dadao, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China. yuanshuaishuai888@126.com

Received: 2013-04-21 Revised: 2013-06-16

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the reliability and validity of bedside emergency endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) without X-ray guidance in the treatment of severe acute biliary pancreatitis.

METHODS: Thirty-four patients with severe acute biliary pancreatitis in intensive care unit were enrolled into this prospective study. These patients were divided into either a treatment group ($n = 14$) or a control group ($n = 18$). The control group underwent routine comprehensive medical treatment. The treatment group was treated by bedside emergency ERCP without X-ray guidance. Selective bile duct cannulation

was performed, and the success of intubation was confirmed by pumping back bile through ducts. Duodenal papilla sphincterotomy lithotomy, routine indwelling nose bile drainage, and secondary ERCP were conducted in case of necessity. Clinical effectiveness and costs were compared between the two groups.

RESULTS: All patients in the treatment group received successful selective bile duct intubation, and six of them needed secondary ERCP. Average time of abdominal pain relief was significantly less in the treatment group than in the control group ($4.38 \text{ d} \pm 1.31 \text{ d}$ vs $11.72 \text{ d} \pm 2.76 \text{ d}$, $P < 0.05$). The average hospitalization time was significantly shorter ($12.69 \text{ d} \pm 3.09 \text{ d}$ vs $25.61 \text{ d} \pm 7.41 \text{ d}$, $P < 0.05$) and the cost of hospitalization was significantly lower ($4.77 \times 10^4 \text{ RMB} \pm 0.97 \times 10^4 \text{ RMB}$ vs $10.04 \times 10^4 \text{ RMB} \pm 2.29 \times 10^4 \text{ RMB}$, $P < 0.05$) in the treatment group than in the control group. Incidence of complications was significantly lower in the treatment group than in the control group (6.25% vs 44.44% , $P < 0.05$). No statistic difference in mortality was found between the two groups.

CONCLUSION: Bedside emergency ERCP without X-ray guidance is a safe and effective treatment for severe acute biliary pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Severe acute biliary pancreatitis; Bedside emergency endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Yuan S, Sun DY. Application of bedside emergency ERCP in the treatment of severe acute biliary pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2217-2220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2217>

摘要

目的: 探讨床边非X线引导下急诊逆行性胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)在重症急性胆源性胰腺炎治疗中的价值。

方法: 34例重症监护室(intensive care unit,

■背景资料

急性胰腺炎是临床上常见的疾病,在我国急性胆源性胰腺炎占急性胰腺炎的50%-70%,其中重症急性胆源性胰腺炎病情凶险、死亡率高,以往常需外科手术,但是手术风险大,急诊内镜介入治疗已成为重症急性胆源性胰腺炎的一种重要治疗手段。而在实际临床工作中,此类患者病情危重,常伴通气功能障碍、心功能不全等严重影响内镜治疗的危险因素,脱离重症监护室(intensive care unit, ICU)监护环境或呼吸机辅助呼吸的逆行性胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)常难以顺利进行,若能在无透视设备的ICU环境下安全有效实施ERCP诊疗,则可能是一种理想的治疗手段。

■同行评议者

周翔宇, 副主任医师, 泸州医学院附属医院血管甲状腺外科

■研发前沿

在重症胆源性胰腺炎患者的内镜治疗中,尽早解除胆道梗阻是缓解病情的关键。而采取何种方式才可既能保证患者治疗安全性,又能取得有效的治疗效果,是此类患者内镜治疗的难点。

ICU)住院重症急性胆源性胰腺炎患者,治疗组16例行急诊床边非X线引导下ERCP术,选择性胆管插管回抽胆汁证实胆管插管成功,必要时行十二指肠乳头括约肌切开取石,常规留置鼻胆引流管引流,病情稳定后必要时行2次ERCP诊疗。对照组18例接受常规内科综合治疗。对照两组患者临床效果与医疗费用。

结果: 治疗组选择性胆管插管成功率为100%, 2次ERCP术共4例,全部患者治愈出院。治疗组腹痛缓解时间 $4.38 \text{ d} \pm 1.31 \text{ d}$ 快于对照组 $11.72 \text{ d} \pm 2.76 \text{ d}$ ($P < 0.05$), 住院时间 $12.69 \text{ d} \pm 3.09 \text{ d}$ 较对照组 $25.61 \text{ d} \pm 7.41 \text{ d}$ 明显缩短 ($P < 0.05$), 治疗费用 $4.77 \text{ 万元} \pm 0.97 \text{ 万元}$ 明显低于对照组 $10.04 \text{ 万元} \pm 2.29 \text{ 万元}$ ($P < 0.05$), 并发症发生率(6.25%)低于对照组(44.44%) ($P < 0.05$), 死亡率(0%)与对照组(11.11%)无显著差异 ($P > 0.05$)。

结论: 床边非X线引导下急诊ERCP治疗是重症胆源性胰腺炎救治的安全有效方法。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 重症急性胆源性胰腺炎; 床边急诊逆行性胰胆管造影

核心提示: 急诊内镜介入治疗已成为重症急性胆源性胰腺炎的一种重要治疗手段,而脱离重症监护室(intensive care unit, ICU)监护环境或呼吸机辅助呼吸的逆行性胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)常难以在此类患者中顺利实施。作者对16例急性重症胆源性胰腺炎在ICU监护条件下实施非X线引导下急诊ERCP治疗,取得良好临床效果,结果提示非X线引导下选择性胆管插管成功率为100%,并可明显缩短缓解腹痛所需时间、减轻并发症发生率、缩短平均住院时间和降低平均住院医疗费用,而非X线引导下成功实施急诊ERCP治疗的前提是具备丰富的ERCP操作经验与操作技巧。

袁帅, 孙大勇. 床边急诊ERCP在重症急性胆源性胰腺炎治疗中的应用16例. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2217-2220
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2217.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2217>

0 引言

急性胰腺炎是临床上常见的疾病,在我国急性胆源性胰腺炎占急性胰腺炎的50%-70%^[1],其中重症急性胆源性胰腺炎病情凶险、死亡率高,以往常需外科干预,但是手术风险大,急诊内镜

介入治疗已成为重症急性胆源性胰腺炎的一种重要治疗手段。而在实际临床工作中,因该类患者病情危重,常常无法及时顺利实施逆行性胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)治疗,错失有效救治时机。若此类患者能在重症监护室(intensive care unit, ICU)监护条件下实施床边急诊ERCP术,将有可能提高ERCP诊疗的安全性,本研究探讨重症急性胆源性胰腺炎在ICU监护条件下,实施非X线引导下急诊ERCP治疗,取得良好临床效果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-01/2013-04广州军区广州总医院与南方大学附属小榄医院ICU住院诊断为重症急性胆源性胰腺炎的患者共34例,重症急性胰腺炎诊断标准参照中华医学会外科学分会胰腺外科学组2007年公布的《重症急性胰腺炎诊治指南》^[2]。所有患者均为发病24 h内入院,腹部B超或CT发现胆囊或胆总管结石,并排除其他病因引起的胰腺炎,所有患者均无毕Ⅱ式胃大部切除术病史。将34例患者分成行急诊床边非X线引导下ERCP术的治疗组(16例),和经内科保守治疗的对照组(18例)。两组在性别、年龄、APACHE II评分方面无统计学差异 ($P > 0.05$), 两组资料具有可比性(表1)。Olympus TJF260型十二指肠镜, Olympus PSD-20型高频电发生器, 各种ERCP治疗配件, 包括斑马导丝、聪明刀、针状切开刀、取石网篮、气囊导管、鼻胆引流管等。

1.2 方法 治疗组: 患者取左侧卧位,呼吸功能障碍者气管插管辅助呼吸,十二指肠镜常规进镜达十二指肠降段,取直镜身,寻找到十二指肠乳头后,在非X线引导下用聪明刀插管(导管内常规留置导丝),插管时阻力突然降低或消失提示进入胰胆管,回抽插管导管见胆汁流出提示进入胆总管,将导丝送进胆总管,若术前B超等提示胆总管结石,则行十二指肠乳头切开,根据结石大小、数目、部位等选择是否用网篮或取石气囊取出,对壶腹部结石嵌顿者,用针状切开刀切开乳头括约肌后取石,最后常规留置鼻胆引流管,术后禁食、胃肠减压、液体复苏、胃肠外营养、抗炎、抑制胰酶分泌等治疗同对照组,病情稳定后复查B超或CT,必要时行2次ERCP术。

对照组: 仅给予内科保守治疗,包括禁食、胃肠减压、液体复苏、胃肠外营养、抗炎、抑制胰酶分泌、维持水电解质与酸碱平衡、保护

■相关报道

国内马应杰等报道了早期内镜下鼻胆引流术在急性重症胆源性胰腺炎治疗中的价值,认为早期内镜下解除胆道梗阻可降低此类患者的死亡率并缩短住院时间。谢子英等探讨了内镜治疗急诊高龄急性重症胆源性胰腺炎的可行性,结果提示早期ERCP治疗急性重症胆源性胰腺炎是安全有效的方法,特别是对高龄患者,能迅速缓解病情,有效缩短患者腹痛缓解时间以及住院时间。

表 1 两组性别、年龄、APACHE II 评分的比较

分组	n	性别(男/女)	年龄(岁)	APACHE II 评分
治疗组	16	7/9	55.88 ± 16.48	13.21 ± 1.57
对照组	18	8/10	56.83 ± 14.23	12.49 ± 1.45

表 2 两组临床效果与住院费用的对比

分组	n	腹痛缓解时间(d)	住院时间(d)	并发症发生率(%)	死亡率(%)	住院费用(万元)
治疗组	16	4.38 ± 1.31	12.69 ± 3.09	6.25	0	4.77 ± 0.97
对照组	18	11.72 ± 2.76	25.61 ± 7.41	44.44	11.11	10.04 ± 2.29

脏器功能与严密监护等。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行资料统计, 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用t检验, 计数资料采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法, 按 $\alpha = 0.05$ 标准, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急诊非X线引导下ERCP完成情况 全部患者成功选择性胆管插管与置留鼻胆引流管, 12例患者一次取石成功, 4例行2次ERCP术清除残留结石, 所有患者均无出血、穿孔等ERCP相关并发症发生。

2.2 两组临床效果与住院费用对比 治疗组患者全部治愈出院, 对照组死亡1例。治疗组在腹痛缓解时间、平均住院时间、并发症发生率、平均住院费用等方面均明显低于对照组($P < 0.05$)。治疗组并发上消化道出血1例, 对照组发生并发症患者共8例, 其中包括急性呼吸窘迫综合征、休克、急性肾损伤、急性心功能衰竭、胰腺脓肿、消化系出血、胰腺假性囊肿和上消化道出血等, 治疗组并发症发生率低于对照组($P < 0.05$, 表2)。

3 讨论

重症急性胆源性胰腺炎是临床上常见的急症, 病情凶险, 病死率高。随着治疗理念的更新与微创技术的进步, 重症急性胆源性胰腺炎救治成功率已有较大幅度的提高^[3], 但针对其治疗的争议从未停止过^[4], 尤其是早期是否行ERCP治疗仍存在争议^[5]。有些学者认为, 早期的ERCP及EST往往不能终止或缓解急性重症胰腺炎的发展, 反而为随后的感染提供了途径, 故对其持怀疑态度。但更多的临床研究结果表明重症胆源性胰腺炎行ERCP和EST治疗是必要和有效的^[6-8]。

中华医学会外科学分会胰腺外科学组2007年公布的《重症急性胰腺炎诊治指南》^[2]推荐胆源性急性胰腺炎患者凡伴有胆道梗阻者一定要及时解除梗阻, 首选作经纤维十二指肠镜下行Oddi括约肌切开取石及鼻胆管引流。然而此类患者常伴通气功能障碍、心功能不全等严重影响内镜治疗的危险因素^[9], 脱离ICU监护环境或呼吸机辅助呼吸的ERCP常难以顺利进行, 若能在无透视设备的ICU环境下安全有效实施ERCP诊疗, 则可能是一种理想的治疗手段。

本研究治疗组16例患者均成功实行非X线引导下ERCP术并常规置留鼻胆引流管, 未发生出血、穿孔等严重并发症, 说明非X线引导下ERCP术是可行的。在重症胆源性胰腺炎患者早期治疗中, 解除胆道梗阻是缓解病情的关键, 有研究表明, 壶腹部持续梗阻时间与ABP的严重程度呈正比, 梗阻在24 h内解除胰腺病变是可逆的, 超过48 h则出现胰腺出血、坏死, 病变严重, 难恢复、预后差^[10,11], 故提倡早期解除梗阻, 在发病24-48 h内行内镜下介入治疗。治疗组患者均能通过取石或置留鼻胆引流管解除胆道梗阻, 在缓解腹痛、减轻并发症、缩短住院时间、减少医疗费用等方面效果均优于单纯内科保守治疗组, 而本组研究并未发现早期内镜下治疗能明显降低患者死亡率, 与相关报道^[12-16]结果一致。

床边非X光引导ERCP术与常规X光引导下ERCP诊疗的最大区别是具有一定的“盲目性”, 即便术者有更好的操作技巧与手感, 仍需承担更大的操作风险与失败率, 在操作上需根据实际情况量力而行, 在重症胆源性胰腺炎患者ERCP诊疗上以达到解除胆道梗阻为基本目标(通常为成功置留鼻胆引流管), 不必因强求取出胆道所有结石而增加出血、穿孔等并发症

■创新盘点

本研究探讨了非X线引导下急诊ERCP治疗急性重症胆源性胰腺炎的可行性与价值, 同时与读者分享了实施非X线引导下急诊ERCP治疗的操作技巧与心得。

■应用要点

床边急诊非X线引导ERCP在重症胆源性胰腺炎诊治是安全可行的, 可明显缩短缓解腹痛所需时间、减轻并发症发生率、缩短平均住院时间和降低平均住院医疗费用, 但相关操作需基于丰富的ERCP操作经验与操作技巧。

■同行评价

本文选题较新,具有一定的临床实用性。

的风险或明显延长操作时间。对于条件允许的医疗单位,若床边非X光引导ERCP术操作失败,可考虑气管插管辅助通气下行常规X光引导下ERCP诊治。

研究表明,床边非X光引导ERCP术是一种可行的方法,但成功的操作有赖于操作者的经验与必要的操作技巧。笔者认为此类患者实施ERCP需注意以下几个环节:(1)操作者需有丰富的ERCP实践经验,有应对困难胆管插管、术中出血等复杂情况的能力;(2)此类患者十二指肠乳头多明显充血水肿,在胆管插管与乳头切开过程中容易出现出血,娴熟应用导丝辅助插管技术有助于减少胆管插管引发的黏膜出血并可提高胆管插管成功率,并应尽量避免乳头预切开;(3)选择性胆管插管与取石过程中导管、导丝、取石网篮或取石气囊进入胆管的深度多需凭借经验与对前端阻力感的判断,过浅或过深均不利于治疗;(4)内镜下表现提示壶腹部结石嵌顿者,首选针状刀切开术;(5)胆道结石不必强求一次性取出,而鼻胆管引流是解除胆道梗阻的必需项目。

总之,床边急诊非X线引导ERCP在重症胆源性胰腺炎诊治是安全可行的,可明显缩短缓解腹痛所需时间、减轻并发症发生率、缩短平均住院时间和降低平均住院医疗费用,但相关操作需基于丰富的ERCP操作经验与操作技巧。

4 参考文献

- 1 王建球, 杨廷燕, 王建平, 陈跃宇. 急性胆源性胰腺炎72例诊治体会. 肝胆外科杂志 2011; 19: 200-202
- 2 中华外科学会胰腺外科学组. 重症急性胰腺炎诊治指南. 中华外科杂志 2007; 45: 727-729
- 3 Bai Y, Liu Y, Jia L, Jiang H, Ji M, Lv N, Huang K, Zou X, Li Y, Tang C, Guo X, Peng X, Fang D, Wang B, Yang B, Wang L, Li Z. Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients.

Pancreas 2007; 35: 232-237 [PMID: 17895843 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3180654d20]

- 4 黄志强, 宋青, 刘志伟, 蔡守旺, 董家鸿. 论重症急性胰腺炎治疗观念的转变. 中华消化外科杂志 2010; 9: 321-325
- 5 孙备, 贾光. 重症急性胰腺炎治疗的争议与共识. 中华消化外科杂志 2012; 11: 314-317
- 6 Lee JK, Kwak KK, Park JK, Yoon WJ, Lee SH, Ryu JK, Kim YT, Yoon YB. The efficacy of nonsurgical treatment of infected pancreatic necrosis. *Pancreas* 2007; 34: 399-404 [PMID: 17446837 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318043c0b1]
- 7 Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2022-2044 [PMID: 17484894 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.065]
- 8 Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400 [PMID: 17032204 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00856.x]
- 9 杜奕奇, 湛先保, 谢沛, 董元航, 陈燕, 于齐宏, 郭晓榕, 郭杰芳, 张文俊, 施新岗, 李建萍, 蔡晔, 张圣道, 李兆申. 以内科综合治疗为特色的重症急性胰腺炎1064例次临床总结. 中华胰腺病杂志 2012; 12: 366-370
- 10 Kapetanios DJ. ERCP in acute biliary pancreatitis. *World J Gastrointest Endosc* 2010; 2: 25-28 [PMID: 21160675 DOI: 10.4253/wjge.v2.i1.25]
- 11 Tse F, Yuan Y. Early routine endoscopic retrograde cholangiopancreatography strategy versus early conservative management strategy in acute gallstone pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 5: CD009779 [PMID: 22592743]
- 12 马应杰, 姜海波, 王俊梅, 冯素萍. 早期内镜下鼻胆引流术在急性重症胆源性胰腺炎治疗中的作用. 临床消化病杂志 2010; 22: 144-146
- 13 王强, 王祥, 沈菁华. 老年急性重症胆源性胰腺炎70例诊治体会. 中华老年医学杂志 2012; 31: 704-706
- 14 Sharma VK, Howden CW. Metaanalysis of randomized controlled trials of endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic sphincterotomy for the treatment of acute biliary pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3211-3214 [PMID: 10566716 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01520.x]
- 15 Ayub K, Imada R, Slavin J. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography in gallstone-associated acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (4): CD003630 [PMID: 15495060]
- 16 White JD. Emergency medicine as primary care? *Am J Emerg Med* 1993; 11: 427-428 [PMID: 8216529]

编辑 田滢 电编 闫晋利



英夫利昔单抗联合肠内营养在治疗中重度克罗恩病中的临床优势

吴高珏, 龚 镭, 胥 明, 朱颖炜

吴高珏, 龚镭, 胥明, 朱颖炜, 南京医科大学附属无锡第二医院消化内科 江苏省无锡市 214002
吴高珏, 主治医师, 主要从事炎症性肠病及胃肠动力方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由龚镭与吴高珏设计; 研究过程由吴高珏、胥明及朱颖炜完成; 数据处理与论文写作由吴高珏完成。
通讯作者: 龚镭, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 214002, 江苏省无锡市中山路68号, 南京医科大学附属无锡第二医院消化内科。gonglei0520@yahoo.com.cn
电话: 0510-66681222-3329
收稿日期: 2013-05-23 修回日期: 2013-06-24
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Infliximab combined with enteral nutrition for management of moderate to severe Crohn's disease

Gao-Jue Wu, Lei Gong, Ming Xu, Ying-Wei Zhu

Gao-Jue Wu, Lei Gong, Ming Xu, Ying-Wei Zhu, Department of Gastroenterology, Wuxi No. 2 Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Lei Gong, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Wuxi No. 2 Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 68 Zhongshan Road, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China. gonglei0520@yahoo.com.cn
Received: 2013-05-23 Revised: 2013-06-24
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical efficacy of infliximab combined with enteral nutrition (EN) in the management of moderate to severe Crohn's disease (CD).

METHODS: Twelve patients with moderate to severe CD which showed no response to traditional treatment were treated with infliximab 6 times, EN for 2 mo and azathioprine for maintenance therapy.

RESULTS: After the treatment, the body weight, body mass index (BMI), hemoglobin and albumin were significantly improved in CD patients (all $P < 0.05$), and the Crohn's disease activity index (CDAI), erythrocyte sedimentation (ESR) and C-reaction protein (CRP) were significantly

lower than pre-treatment values (all $P < 0.05$). All of the 12 patients showed clinical response to the treatment, of whom two achieved clinical remission and seven achieved mucosal healing. After 2 to 30 mo of follow-up, 1 patient developed lymphadenoma, and one patient developed recurrence after stopping taking azathioprine for 2 mo. The rest patients showed no relapse until now.

CONCLUSION: Infliximab combined with EN, together with maintenance therapy with azathioprine, is effective in the management of moderate to severe CD in terms of improving clinical efficacy, mucosal healing and prognosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Infliximab; Enteral nutrition; Azathioprine; Crohn's Disease

Wu GJ, Gong L, Xu M, Zhu YW. Infliximab combined with enteral nutrition for management of moderate to severe Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2221-2227 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2221.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2221>

摘要

目的: 观察克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者应用英夫利昔单抗(类克)联合肠内营养(enteral nutrition, EN)为主的治疗方案的疗效。

方法: 选择12例中重度传统治疗无效的CD患者, 以类克5 mg/(kg·次)的剂量静脉输注6次, 同时加用EN治疗2 mo, 服用硫唑嘌呤作为维持治疗。

结果: (1)治疗后, 患者的体质量、体质量指数、血红蛋白及血清白蛋白均较治疗前显著提高($P < 0.05$); (2)治疗后, 患者的CD活动指数、血沉、C反应蛋白较前明显下降($P < 0.05$); 12例患者均治疗有效, 且其中10例患者达到临床缓解, 7例患者达到黏膜愈合; (3)随访2-30 mo, 1例患者发生恶性淋巴瘤, 1例患者自

■背景资料

我国克罗恩病(Crohn's disease, CD)的发病率呈逐年上升趋势, 该疾病临床表现多样化, 并发症多。以氨基水杨酸类、激素、免疫抑制剂为主的传统治疗, 对于一些中重度难治性CD的疗效不理想。近年来, 英夫利昔单抗及肠内营养的应用在CD治疗中的作用受到重视, 与传统治疗的联合应用为CD的治疗带来了新的曙光。

■同行评议者

冯志杰, 主任医师, 河北医科大学第二医院消化内科

■研究前沿

近年来, 英夫利昔单抗在中重度、传统治疗无效、或有瘘管等并发症的CD患者治疗中的应用得到肯定。同时, 肠内营养支持治疗可改善CD患者营养状态、促进病情缓解、改善生活质量。两者在难治性CD的治疗中的联合应用方面的优势仍有待进一步大规模临床试验探讨。

行停药硫唑嘌呤后复发, 其余10例患者无复发。

结论: 对于中重度CD, 采取类克、联合EN诱导缓解, 后期予硫唑嘌呤维持治疗, 可能更多地达到临床有效和/或黏膜愈合, 改善CD患者的预后。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 英夫利昔单抗; 肠内营养; 硫唑嘌呤; 克罗恩病

核心提示: 本研究对于12例中重度难治性克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者, 应用英夫利昔单抗联合肠内营养进行治疗, 并应用硫唑嘌呤作为维持治疗, 分析了患者营养状况、症状、CD活动指数、内镜表现、并发症、复发情况等详细资料, 提示该治疗方法可能更多地达到临床有效和/或黏膜愈合, 改善CD患者的预后, 在CD治疗中具有较好的临床优势。

吴高珏, 龚镭, 胥明, 朱颖炜. 英夫利昔单抗联合肠内营养在治疗中重度克罗恩病中的临床优势. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2221-2227 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2221.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2221>

0 引言

近年来, 我国克罗恩病(Crohn's disease, CD)的发病率呈逐年上升趋势, 该疾病临床表现多样化, 包括腹泻、腹痛、血便等消化系表现, 体质量减轻、发热、贫血等全身性表现, 瘘管、肠腔狭窄及梗阻、肛周病变等并发症, 病程迁延, 易反复发作。该疾病的药物治疗以诱导缓解和维持缓解, 防治并发症, 改善生存质量为目的。常用的药物有氨基水杨酸类、糖皮质激素及免疫抑制剂等。但近年来, 激素依赖及激素抵抗的CD病例日益增多^[1], 部分中重度CD患者对硫唑嘌呤等免疫抑制剂治疗无效或复发率高, 传统治疗对于许多难治性CD的疗效均不理想。

目前的研究提示, 许多细胞因子, 尤其是肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)以旁分泌或自分泌的方式在CD患者中发挥作用, 增强、放大炎症连锁反应, 最终导致一系列组织损伤和坏死。英夫利昔单抗(infliximab, 商品名类克, Remicade)是一种人-鼠嵌合型单克隆抗TNF- α 抗体, 可有效地促进产TNF- α 的炎症细胞凋亡, 从而抑制炎症反应^[2]。近年来, 英夫利昔单抗在中重度、传统治疗无效或有瘘管等并发症的CD患者治疗中的应用得到重视^[3]。同时, 许多

中重度CD患者存在体质量下降、贫血、低蛋白血症等营养不良的表现, 肠内营养(enteral nutrition, EN)支持治疗可改善CD患者营养状态、促进病情缓解、改善生活质量。本文观察了12例中重度传统治疗无效的CD患者应用英夫利昔单抗联合肠内营养为主的治疗方案的疗效。

1 材料与方法

1.1 材料 以2010-12/2012-08在南京医科大学附属无锡第二医院消化内科住院治疗的传统治疗(美沙拉嗪、糖皮质激素、硫唑嘌呤)无效的12例中重度CD患者为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 传统治无效的CD患者的诊断: 所有患者依据2007年我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见^[4], 具有典型的临床表现、结肠镜检查及黏膜组织学检查结果, 部分患者有手术病理结果。病情严重程度评价根据患者的CD活动指数(Crohn's disease activity index, CDAI)指数, 220-450为中度、>450为重度。该12例患者均予美沙拉嗪1.0 qid+泼尼松(起始剂量0.75 mg/(kg·d), 症状缓解后逐渐减量)+硫唑嘌呤1.0-1.5mg/(kg·d)治疗3 mo以上(其中有2例患者分别由于合并慢性再生障碍性贫血及白细胞减少未使用硫唑嘌呤, 仅应用美沙拉嗪+泼尼松治疗2 mo), 治疗后患者CDAI下降<100, 或出现激素依赖或抵抗, 或复查肠镜无明显好转。

1.2.2 给药剂量及途径: 传统治疗无效的CD患者按照每周减5 mg泼尼松的剂量逐渐减量并停用激素, 停用美沙拉嗪, 继续服用硫唑嘌呤1 mg/(kg·d)(合并慢性再生障碍性贫血及白细胞减少的2例患者除外), 并改用类克治疗。类克以5 mg/(kg·次)的剂量静脉输注, 于0、2、6 wk作为诱导期治疗, 其后每8 wk给药一次巩固治疗×3次。同时, 从第一次应用类克治疗起加用EN治疗, 其中3例置入螺旋式鼻肠管, 予百普力(荷兰Nutricia公司)1000 kcal/d(1000 mL/d)夜间鼻饲×2 mo, 另9例患者口服百普素(荷兰Nutricia公司)1005 kcal/d(250 g/d)×2 mo; 本研究所有应用类克和硫唑嘌呤治疗均签署知情同意书。

1.2.3 疗效观察: 患者于治疗前及每次类克治疗后都予以临床症状的评价, 并比较体质量、体质量指数(body mass index, BMI)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、白蛋白(albumin, ALB)、血沉(erythrocyte sedimentation, ESR)及C反应蛋白(C reaction protein, CRP)的变化, 同时计算CD活

动指数(Crohn's disease activity index, CDAI), 并至少在治疗前及第3、4、6次类克治疗后内镜检查观察黏膜愈合情况. 以CDAI作为疗效评价标准, CDAI<150分为临床缓解, CDAI下降 ≥ 100 分作为治疗有效, 治疗后内镜下溃疡消失为黏膜愈合; 经药物治疗进入缓解期后, CD相关临床症状再次出现, 并有实验室炎症指标、内镜检查及影像学检查的疾病活动证据, 且CDAI>150分且较前升高100分则为复发.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行分析, 应用配对 t 检验比较治疗前后患者体质量、BMI、Hb、ALB、ESR、CRP及CDAI的变化. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗前患者的临床特征 本研究中的12例CD患者, 男5例, 女7例, 平均年龄 40.5 ± 13.02 岁(20-62岁), 平均病程 $25.08 \text{ mo} \pm 35.60 \text{ mo}$ (2-124 mo). 症状表现有腹痛的10例, 腹泻的7例, 血便的2例, 胸骨后疼痛的1例(该例病变部位为食道). 病情严重程度评价根据CDAI指数, 中度9例, 重度3例. 病变范围为结肠型的2例, 回肠型的3例, 回结肠型的5例, 食道的1例, 累及十二指肠、回肠、结肠的1例. 接受本方案治疗前, 由于克罗恩病导致肠梗阻或穿孔接受过手术的患者3例, 合并腹壁肠瘘的1例, 腹壁窦道的1例(该患者肠穿孔行手术后腹壁手术瘢痕处反复由于线结反应形成多发的窦道), 合并肠外表现的合并关节炎或关节痛2例, 口腔溃疡2例.

2.2 疗效

2.2.1 治疗前后患者营养情况评价: 治疗前12例患者中, BMI<18.5 kg/m²的患者7例, BMI在18.5-21.0 kg/m²的患者5例, 合并贫血的患者7例, 低蛋白血症的患者5例. EN治疗结束后及类克治疗结束后, 患者的体质量、BMI、Hb及ALB均较治疗前显著提高($P<0.05$). 其中EN治疗结束后, 有3例患者BMI<18.5 kg/m², 4例患者贫血, 2例患者低蛋白血症; 类克治疗结束后, 仅有2例患者BMI<18.5 kg/m², 3例患者贫血, 所有患者均无低蛋白血症; EN治疗结束后与类克治疗结束后相比, 患者的体质量、BMI无显著差异($P>0.05$), 而Hb及ALB在类克治疗结束后较EN治疗结束后显著升高($P<0.05$, 表1).

2.2.2 治疗前后临床及内镜评价: 本组12例患者, 在3次类克治疗后, CDAI较治疗前显著下降(144.75 ± 77.29 vs 343.33 ± 83.18 , $t = -12.49$,

$P<0.05$). 12例患者中, 11例患者治疗有效, 且其中6例患者达到临床缓解; 6次类克治疗后, CDAI较3次类克治疗后进一步显著下降(92.33 ± 47.08 vs 144.75 ± 77.29 , $t = -3.88$, $P<0.05$), 12例患者均治疗有效, 且其中10例患者达到临床缓解.

经3次类克治疗后, ESR较治疗前显著下降(15.92 ± 10.66 vs 49.00 ± 29.74 , $t = -4.72$, $P<0.05$), 经6次类克治疗后, ESR较3次类克治疗后进一步显著下降(10.08 ± 4.17 vs 15.92 ± 10.66 , $t = -2.54$, $P<0.05$).

经3次类克治疗后, CRP较治疗前显著下降(6.43 ± 3.98 vs 34.18 ± 29.49 , $t = -3.13$, $P<0.05$), 经6次类克治疗后, ESR较3次类克治疗后无显著差异(6.06 ± 2.86 vs 6.43 ± 3.98 , $t = -0.45$, $P>0.05$).

3次类克治疗后, 2例患者症状完全缓解, 10例患者症状部分缓解. 6次类克治疗后, 3例患者症状完全缓解, 9例患者症状部分缓解; 其中1例合并腹壁肠瘘的患者在3次类克治疗后瘘管明显缩小, 6次类克治疗后瘘管进一步缩小(治疗前腹壁瘘口 $50 \text{ mm} \times 39 \text{ mm}$, 3次类克治疗后瘘口 $23 \text{ mm} \times 12 \text{ mm}$, 6次类克治疗后瘘口 $20 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$); 另1例合并腹壁窦道的患者在3次类克治疗后窦道明显变浅、部分愈合, 6次类克治疗后窦道完全愈合; 2例合并关节炎及2例口腔溃疡的患者在3次类克治疗后关节疼痛、活动受限、口腔反复溃疡的症状缓解, 6次类克治疗后上述症状进一步缓解.

3次类克治疗后, 2例患者达到黏膜愈合; 6次类克治疗后, 7例患者达到黏膜愈合(图1). 尤其是其中1例病变部位在食道的CD患者, 在类克治疗前, 予埃索美拉唑+美沙拉嗪+糖皮质激素治疗2 mo(该患者白细胞计数低, 未予硫唑嘌呤治疗), 食道溃疡虽略有变浅, 病理见周边肉芽组织生成, 但溃疡大小无明显变化, 吞咽后胸骨后疼痛加剧, 遂接受类克治疗, 激素减量后逐渐撤除, 在第3次类克治疗前复查胃镜, 已达黏膜愈合(图2).

2.3 随访 12例患者在本次治疗结束后, 继续服用硫唑嘌呤 $1.0-1.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ (合并慢性再生障碍性贫血及白细胞减少的2例患者除外)至少2-4年后停药, 随访至今(2-30 mo). 其中1例患者在本次治疗结束后约6 mo(仍在继续服用硫唑嘌呤)再次出现腹痛症状、出现明显消瘦, 血沉、CRP明显升高, 腹部平片提示肠梗阻, 腹部B超及CT均提示腹腔多发淋巴结肿大, 予禁食、补液支持等治疗后腹痛缓解; 随访1 mo后

■相关报道

早在1997年, Targan等的一项纳入108例CD患者的双盲对照研究显示, 在给药2 wk后观察到疗效, 在第4周, 英夫利昔单抗组有81%的患者被判为有效, 好转48%. 12 wk后, 仍有近半数的患者维持疗效. 近年来, 英夫利昔单抗在CD治疗中, 诱导缓解、维持治疗、降低并发症及手术率的作用得到进一步肯定.

■创新盘点

肠内营养在CD治疗中切实可行,疗效也得到多项研究的验证,但目前仍缺乏可靠有据的临床实践指南,临床普及率较低;而英夫利昔单抗由于价格昂贵,在临床应用中受到限制;所以,两者在难治性CD中的联合应用仍有待进一步临床大规模的研究。

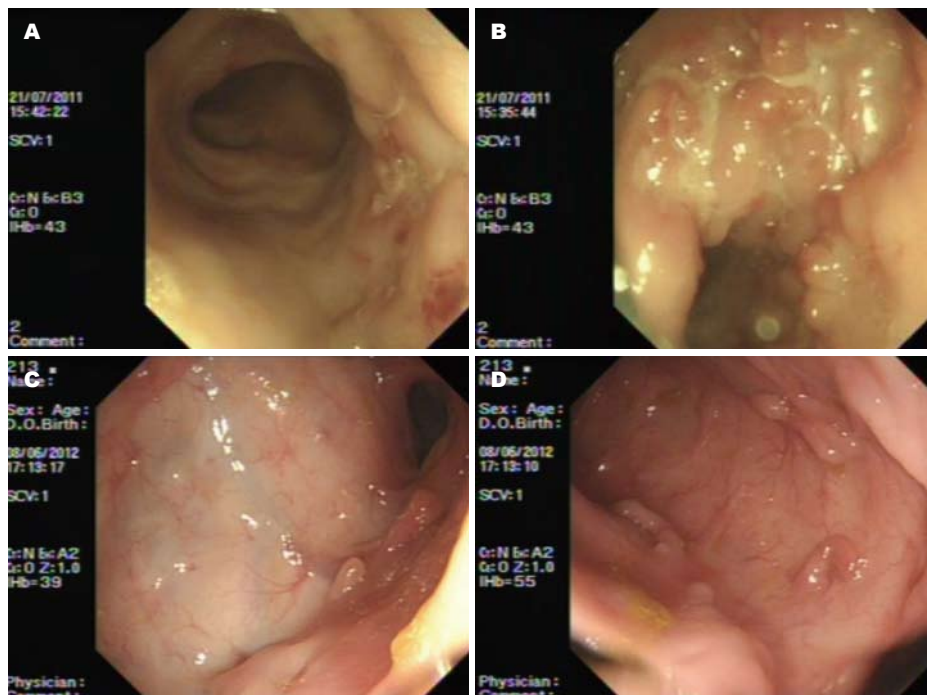


图1 CD患者治疗前后肠镜比较。

A, B: 为患者行类克+EN治疗前,仅用传统治疗无效,肠镜见结肠黏膜溃疡,铺路石样改变; C, D: 为患者行6次类克+EN治疗后,溃疡愈合,有假息肉形成。CD: 克罗恩病; EN: 肠内营养。

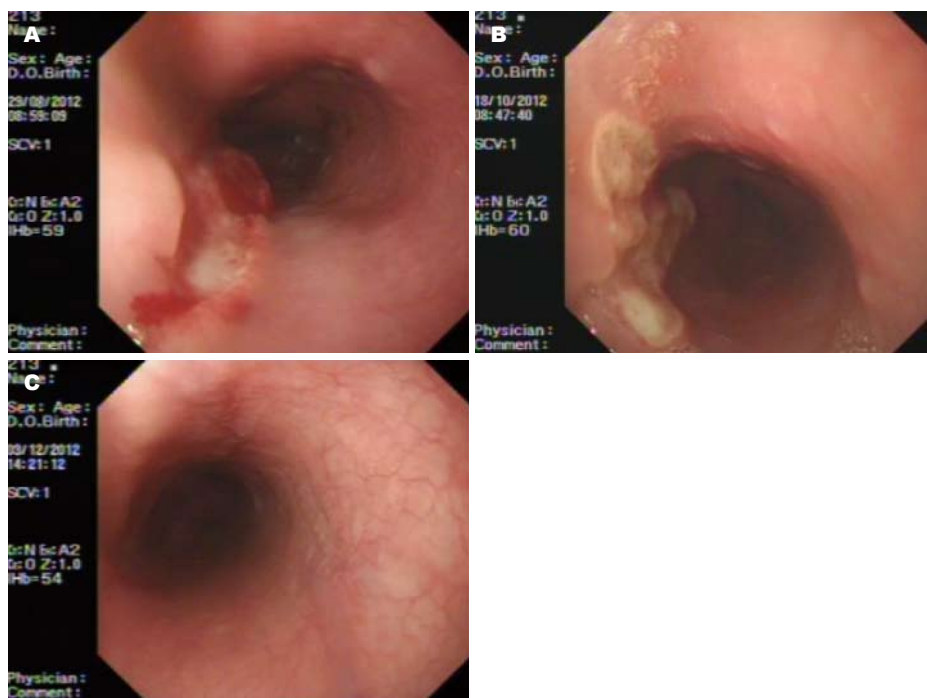


图2 病变位于食道的CD患者治疗前后胃镜比较。

A: 治疗前患者胃镜是食道见纵行深大溃疡; B: 患者经埃索美拉唑+美沙拉唑+激素治疗后复查胃镜见食道溃疡略有变浅,但溃疡无明显缩小; C: 患者接受类克+EN治疗,第3次应用类克前复查胃镜,已达到黏膜愈合。CD: 克罗恩病; EN: 肠内营养。

腹痛又复加剧,出现回肠穿孔,予急诊手术治疗。术中见距回盲部40 cm处回肠穿孔,近端肠腔扩张,远端肠腔水肿;切除病变肠管见肠腔内一溃疡,大小6 cm×4 cm×3 cm,溃疡周边隆起,少量黏膜成鹅卵石样改变,切面灰白色,溃疡中央见一穿孔3 cm×1 cm;病理示肠壁全层炎细胞浸润,溃疡中央大片肿瘤性坏死,边缘区见肿瘤细胞呈圆形和多角形,体积中等,部分呈免疫母细胞样大细胞,核扭曲、畸形;瘤细胞免疫酶标: LCA(+), CD56(-), CD57(-), CD30(间

质+), CD20(-), CD79a(-), CD3(+), CD45RO(+), CD43(-), CD5(+), Bcl-6(少数散在+), MUM-1(+), Ki67(+, >70%), PAX-5(-), EMA(-), 病理诊断为(回肠)恶性淋巴瘤, T细胞性, 非特殊型, 浸润肠壁全层;术中切除2枚淋巴结未见转移;该患者术后予ECHOP方案化疗, 目前仍在化疗中。另一例患者在治疗结束后约4 mo后, 自行停药硫唑嘌呤, 在治疗结束后约6 mo, 腹痛加重, 瘘管较前扩大, 肠镜见右半结肠裂隙样溃疡, 诊断为CD复发, 患者考虑经济原因, 拒绝再次应用类克,

表 1 治疗前后患者BMI、Hb、ALB变化

	体质量(kg)	BMI(kg/m ²)	Hb(g/L)	ALB(g/L)
治疗前	52.04 ± 7.64	18.44 ± 1.98	105.42 ± 20.62	35.70 ± 5.90
EN治疗结束后	56.00 ± 8.27 ^a	19.83 ± 2.06 ^a	119.00 ± 15.97 ^a	40.05 ± 4.86 ^a
类克治疗结束后	58.00 ± 6.51 ^a	20.55 ± 1.25 ^a	128.17 ± 15.75 ^{ac}	42.67 ± 4.08 ^{ac}

^a*P*<0.05 vs 治疗前, ^c*P*<0.05 vs 肠内营养治疗结束后. BMI: 体质量指数; Hb: 血红蛋白; ALB: 白蛋白; EN: 肠内营养.

予环磷酰胺治疗5次后治疗有效,但未达临床缓解,但瘘管较前无明显缩小,结肠裂隙样溃疡较前变浅.其余10例患者随访至今尚未见复发.

3 讨论

CD的发病机制并不十分明确,近年来的研究表明,以细胞中介免疫反应为主的免疫应答异常在CD的发病中起重要作用. 硫唑嘌呤是一种非特异的免疫抑制剂,可抑制DNA、RNA及蛋白质合成,从而抑制基因复制和T细胞活化,近年来成为了治疗CD的一线用药. 然而,在临床CD的治疗中,传统的应用硫唑嘌呤或联合应用糖皮质激素、美沙拉嗪,仍有许多难治性CD病例无法得到缓解,或反复发作,手术及死亡率高.

英夫利昔单抗是一种合成的嵌合体单克隆抗TNF- α 抗体,可与单核巨噬细胞和活化的T细胞膜结合型TNF- α 结合或与血浆中游离的TNF- α 结合,并将其中和,可阻断免疫级联链的多个环节,对CD有诱导缓解,促进瘘管闭合等治疗作用. 类克是最早被美国FDA批准治疗瘘管型CD及常规治疗无效的中重度活动期CD的英夫利昔单抗,2002年FDA将其适应证扩大至作为缓解期CD的维持治疗. 但由于类克价格昂贵,作为维持治疗,经济负担过重,故本研究应用于传统治疗无效的中重度CD,并用硫唑嘌呤作为维持治疗. 临床研究认为硫唑嘌呤在服用3 mo以上才可完全发挥作用,从而早期使用英夫利昔单抗可更好地诱导缓解,并降低激素用量,减少其不良反应,也降低了肠梗阻等并发症发生率. 本研究中12例患者中,在治疗结束后,58.3%(7例/12例)达到黏膜愈合;其中有5例患者病程 \leq 1年,其治疗结束后,其中4例患者达到黏膜愈合;除1例由于出现T细胞性恶性淋巴瘤并发肠穿孔接受手术外,无一例出现需要手术的并发症. 且对于肠外并发症,其中1例合并腹壁肠瘘的患者治疗后瘘管明显缩小;另1例合并腹壁窦道的患者治疗后窦道完全愈合;2例合并关节炎及2例口腔溃疡的患者在3次类克治疗后关节疼痛、活动

受限、口腔反复溃疡的症状缓解. 故早期应用包括类克在内的强有力的治疗方案(Top-down方案),并以硫唑嘌呤维持治疗,对于更快地诱导缓解及维持治疗具有良好的临床价值. 黏膜愈合是CD取得远期治疗效果的关键因素^[5]. 有研究显示^[6],在第0、2、6周静注类克5 mg/kg后,29%的患者达到黏膜愈合,其中系统接受8 wk/次的静注类克5-10 mg/kg的患者,1年后黏膜修复率达44%. 本研究中在6次类克治疗后,黏膜愈合率达58.3%,略高于上述报道,除本研究的患者例数较少,可能导致统计学的偏倚外,与本研究的患者还同时接受肠内营养及硫唑嘌呤治疗可能有关.

在类克的不良反应方面,最常见的为急性输液反应^[7-9],如头痛、胸闷、恶心、风疹、荨麻疹、气促,在应用类克前应用糖皮质激素或免疫抑制剂可降低急性输液反应及类血清病样反应^[10,11];本研究中,有3例患者在前2-3次输液过程中出现胸闷气促,予减慢滴速后可耐受,部分患者予激素治疗后症状缓解. 此外,由于在应用类克治疗前,本研究组均对患者进行严格的检查,排除结核、病毒性肝炎、艾滋病、肿瘤,故在此12例患者中,未出现严重感染. 但是,由于TNF- α 对肿瘤的生长有一定抑制作用,所以抗TNF- α 药物是否增加癌变是一个值得注意的问题. 从临床研究结果来看,在最长长达102 wk的观察中,接受类克治疗的1678例患者中有18例发生肿瘤,与每年的基础流行病学资料相比无统计学差异^[12],但是仍有待更长的随访研究予以证实. 本研究组的12例患者中,最早应用类克治疗的一例,证实在随访6 mo后证实发生小肠恶性淋巴瘤(T细胞性),但该患者除接受类克治疗外,在接受类克治疗前后均接受免疫抑制剂-硫唑嘌呤的治疗5年以上,其发生淋巴瘤是否与类克和/或免疫抑制剂治疗有关,尚有待进一步研究.

CD患者由于摄入不足、吸收不良、肠道丢失、代谢率增高及药物的影响,多数会出现不同程度的营养不良. 目前的研究认为,EN可有

■应用要点

对于中重度难治性CD患者而言,采取包括英夫利昔单抗、肠内营养、免疫抑制剂等在内的强有力的治疗手段(Top-down方案)诱导缓解,后期予硫唑嘌呤维持治疗,可能更多地达到临床有效和/或黏膜愈合,改善CD患者的预后. 但是,本研究的研究数量及随访期限仍有限,英夫利昔单抗联合肠内营养的远期疗效及不良反应仍有待进一步观察.

■名词解释

英夫利昔单抗: 一种人鼠嵌合体抗肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的单克隆抗体, 可以诱导表达TNF- α 的炎症细胞凋亡, 阻断免疫级联链的多个环节, 从而抑制炎症过程。目前主要应用于炎症性肠病、强直性脊柱炎、类风湿性关节炎的患者治疗。

效改善CD患者的营养状态^[13,14]、诱导CD的缓解^[15]、延长缓解期^[16], 减少并发症的发生。EN治疗CD的机制尚不十分明确, 目前主要认为与肠屏障功能相关。EN改善患者的营养状态, 促进肠上皮受损细胞愈合, 减少肠道通透性, 对抗促炎细胞因子的作用, 使肠道休息, 加强肠屏障功能。本研究的12例患者在治疗前, CDAI指数均>220, 活动性较强, 因此, 选择了半要素膳-百普力或百普素作为EN的制剂, 由于百普力口感相对较差, 所以3例患者采用鼻肠管留置, 鼻饲百普力; 百普素口感相对较好, 对于能耐受百普素口感的另9例患者则采用口服百普素进行EN治疗。百普力及百普素采用短肽及氨基酸预消化配方, 更快补充蛋白质和减少胃肠道负担, 且短肽刺激肠黏膜上皮生长, 促进肠道屏障结构及功能的恢复, 残渣极少, 其中的短肽成分不但不会作为抗原致敏肠道, 反而更接近于正常人的生理性蛋白吸收模式。本研究的12例患者中, 在2 mo的EN治疗结束后, BMI、Hb、ALB均较治疗前明显升高, 且患者内镜下的黏膜溃疡较前变浅、减少或愈合, 提示在疾病活动期, 患者的消化系统屏障功能受损的情况下, 应用类克为主的药物治疗联合肠内营养, 更有助于CD的缓解。而2 mo后停止EN治疗, 继续类克为主的药物治疗后, 患者的体质量、BMI较EN治疗结束后无显著差异($P>0.05$), 而Hb及ALB在类克治疗结束后较EN治疗结束后进一步显著升高, 提示随着CD的缓解, 患者的消化系统屏障功能的恢复, 饮食摄入的增加, 吸收能力的改善, 即使停用了EN, 营养状况亦可随着CD的缓解进一步好转。

总之, 对于中重度CD患者而言, 采取包括类克、EN、免疫抑制剂等在内的强有力的治疗手段(Top-down方案)诱导缓解, 后期予硫唑嘌呤维持治疗, 可能更多地达到临床有效和/或黏膜愈合, 改善CD患者的预后。但是, 本研究的研究数量及随访期限仍有限, 类克联合EN的远期疗效及不良反应仍有待进一步观察。

4 参考文献

- 1 Faubion WA, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology* 2001; 121: 255-260 [PMID: 11487534]
- 2 Rutgeerts P, Vermeire S, Van Assche G. Biological therapies for inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2009; 136: 1182-1197 [PMID: 19249397 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.001]
- 3 Riis A, Martinsen TC, Waldum HL, Fossmark R.

Clinical experience with infliximab and adalimumab in a single-center cohort of patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 649-657 [PMID: 22472026 DOI: 10.3109/00365521.2012.672591]

- 4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 5 Frøslie KF, Jahnsen J, Moum BA, Vatn MH. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: results from a Norwegian population-based cohort. *Gastroenterology* 2007; 133: 412-422 [PMID: 17681162 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.05.051]
- 6 Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Hanauer SB. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-413 [PMID: 14762776 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.014]
- 7 Colombel JF, Loftus EV, Tremaine WJ, Egan LJ, Harmsen WS, Schleck CD, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The safety profile of infliximab in patients with Crohn's disease: the Mayo clinic experience in 500 patients. *Gastroenterology* 2004; 126: 19-31 [PMID: 14699483 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.10.047]
- 8 Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, Salzberg BA, Diamond RH, Chen DM, Pritchard ML, Sandborn WJ. Serious infections and mortality in association with therapies for Crohn's disease: TREAT registry. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 621-630 [PMID: 16678077 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.03.002]
- 9 Hamzaoglu H, Cooper J, Alsahli M, Falchuk KR, Peppercorn MA, Farrell RJ. Safety of infliximab in Crohn's disease: a large single-center experience. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 2109-2116 [PMID: 20848473 DOI: 10.1002/ibd.21290]
- 10 Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, Mayer L, Regueiro C, Rutgeerts P, Sandborn WJ, Sands BE, Schreiber S, Targan S, Travis S, Vermeire S. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133: 312-339 [PMID: 17631151 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.05.006]
- 11 Fidler H, Schnitzler F, Ferrante M, Noman M, Katsanos K, Segert S, Henckaerts L, Van Assche G, Vermeire S, Rutgeerts P. Long-term safety of infliximab for the treatment of inflammatory bowel disease: a single-centre cohort study. *Gut* 2009; 58: 501-508 [PMID: 18832524 DOI: 10.1136/gut.2008.163642]
- 12 Han PD, Cohen RD. Managing immunogenic responses to infliximab: treatment implications for patients with Crohn's disease. *Drugs* 2004; 64: 1767-1777 [PMID: 15301561]
- 13 Lee JJ, Escher JC, Shuman MJ, Forbes PW, Delemarre LC, Harr BW, Kruijer M, Moret M, Allende-Richter S, Grand RJ. Final adult height of children with inflammatory bowel disease is predicted by parental height and patient minimum height Z-score. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1669-1677 [PMID: 20127995 DOI: 10.1002/ibd.21214]
- 14 Wiese DM, Lashner BA, Lerner E, DeMichele SJ, Seidner DL. The effects of an oral supplement enriched with fish oil, prebiotics, and antioxidants on

- nutrition status in Crohn's disease patients. *Nutr Clin Pract* 2011; 26: 463-473 [PMID: 21775642 DOI: 10.1177/0884533611413778]
- 15 Nguyen GC, Laveist TA, Brant SR. The utilization of parenteral nutrition during the in-patient management of inflammatory bowel disease in the United States: a national survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1499-1507 [PMID: 17931346]
- 16 Esaki M, Matsumoto T, Hizawa K, Nakamura S, Jo Y, Mibu R, Iida M. Preventive effect of nutritional therapy against postoperative recurrence of Crohn disease, with reference to findings determined by intra-operative enteroscopy. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 1431-1437 [PMID: 16316891]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

■同行评价

本文总结了12例英夫利昔单抗联合肠内营养治疗CD的病例, 资料较齐全, 对难治型CD患者治疗方案的选择, 具有一定临床应用价值。



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

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

SLP-2在结肠癌中的表达

张剑, 吴敏, 王利娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂, 邢鑫

■背景资料

SLP-2基因是2000年发现并命名的一个新基因。研究表明, SLP-2基因在食管癌、肺癌、子宫内膜癌、前列腺癌等恶性肿瘤中高表达。推测其可能是一个新的癌基因。

张剑, 吴敏, 王利娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂, 邢鑫, 郑州大学第五附属医院肿瘤科 河南省郑州市450052

张剑, 主要从事消化系统肿瘤的相关研究。

作者贡献分布: 课题由张剑、吴敏及王利娟设计; 张剑完成课题的主要工作; 张红巧、师广勇、巴楠、张自森、闫琳、郑晓珂及邢鑫参与课题研究。

通讯作者: 张剑, 主治医师, 450052, 河南省郑州市康复前街3号, 郑州大学第五附属医院肿瘤科。bluemoon630@163.com

收稿日期: 2013-05-20 修回日期: 2013-06-02

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-08

Expression of SLP-2 in colorectal cancer

Jian Zhang, Min Wu, Li-Juan Wang, Hong-Qiao Zhang, Guang-Yong Shi, Nan Ba, Zi-Sen Zhang, Lin Yan, Xiao-Ke Zheng, Xin Xing

Jian Zhang, Min Wu, Li-Juan Wang, Hong-Qiao Zhang, Guang-Yong Shi, Nan Ba, Zi-Sen Zhang, Lin Yan, Xiao-Ke Zheng, Xin Xing, Department of Oncology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Jian Zhang, Attending Physician, Department of Oncology, the Fifth affiliated Hospital of Zhengzhou University, 3 Kangfu Qianjie, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. bluemoon630@163.com

Received: 2013-05-20 Revised: 2013-06-02

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of stomatin like protein 2 (SLP-2) in colorectal cancer.

METHODS: The mRNA and protein expression of SLP-2 was detected by RT-PCR in 40 cases and by immunohistochemistry in 50 cases of human colorectal cancer and matched tumor-adjacent tissue. The relationship between SLP-2 protein expression and clinical and pathologic characteristics of colorectal cancer was analyzed.

RESULTS: The expression level of SLP-2 mRNA was significantly higher in colorectal cancer than in tumor-adjacent tissue (1.31 ± 0.28 vs 0.74 ± 0.16 , $P < 0.05$). The positive rate of SLP-2 protein expression was also significantly higher in colorectal cancer than in tumor-adjacent tissue (70.0% vs 22%, $P < 0.05$). Expression of SLP-2 protein in colorectal cancer was associated with lymph

nodes metastasis and TNM stage (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of SLP-2 is increased in colorectal cancer. SLP-2 may play important roles in the occurrence, development and metastasis of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Stomatin like protein 2; Colorectal cancer; Lymph nodes metastasis; TNM stage

Zhang J, Wu M, Wang LJ, Zhang HQ, Shi GY, Ba N, Zhang ZS, Yan L, Zheng XK, Xing X. Expression of SLP-2 in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2228-2231 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2228.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2228>

摘要

目的: 研究SLP-2(stomatin like protein 2)基因在结肠癌及正常结肠黏膜中的表达情况。

方法: 应用RT-PCR法及免疫组织化学法分别检测40例和50例结肠癌及其癌旁正常结肠黏膜中SLP-2 mRNA和蛋白的表达, 并结合免疫组织化学结果及结肠癌患者的临床病理资料进行分析。

结果: RT-PCR结果显示, 结肠癌及配对癌旁正常组织中SLP-2 mRNA的表达水平分别为 1.31 ± 0.28 和 0.74 ± 0.16 , 前者较后者明显升高($P < 0.05$)。免疫组织化学结果显示, SLP-2蛋白在结肠癌及配对癌旁正常组织中的高表达率分别为70.0%(35/50)和22%(11/50), 两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。且SLP-2蛋白的表达与有无淋巴结转移及TNM分期相关(均 $P < 0.05$)。

结论: SLP-2基因在结肠癌组织中高表达, 可能参与结肠癌的发生发展和转移。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: SLP-2; 结肠癌; 淋巴结转移; TNM分期

核心提示: 本实验检测了结肠癌及其癌旁正常结

■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

肠组织中SLP-2(stomatin like protein 2)的表达,并结合免疫组织化学结果及结肠癌患者的临床病理资料进行分析。结果发现, *SLP-2*基因在结肠癌组织中高表达,并与有无淋巴结转移及临床分期相关,提示SLP-2可能参与结肠癌的发生发展和转移。

张剑, 吴敏, 王利娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂, 邢鑫. SLP-2在结肠癌中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2228-2231 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2228.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2228>

0 引言

结肠癌是常见的消化系恶性肿瘤,其在欧美国家发病率较高,在发展中国家发病率较低,但近30年来,随着生活水平及饮食习惯的改变,我国结肠癌的发病率和死亡率明显升高^[1]。癌基因的激活和抑癌基因的失活是恶性肿瘤发生发展过程中的重要事件,寻找并研究新的癌基因有助于揭示恶性肿瘤的发生机制,并能为恶性肿瘤的基因治疗提供线索。*SLP-2*(stomatin like protein 2)基因是2000年发现的一个新基因,属于*stomatin*基因超家族的一个新成员^[2]。近年来的研究显示, *SLP-2*基因在多种恶性肿瘤中高表达^[3-8],推测*SLP-2*可能是一个新的癌基因。目前SLP-2在消化系肿瘤中的研究较少,本实验采用RT-PCR和免疫组织化学法检测SLP-2在人结肠癌组织中的表达情况,并分析SLP-2蛋白的表达水平与临床病理资料的关系,旨在研究SLP-2在结肠癌中的表达特点及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第五附属医院2010-01/2011-06手术切除结肠癌标本50例,取癌组织及癌旁正常组织(距离癌组织边缘>5 cm)。所有标本均经病理学检查确诊为结肠癌,术前未接受过放、化疗。其中男27例,女23例;年龄40-72岁,中位年龄63岁。临床分期按TNM分期标准(AJCC 2010年第7版)。

1.2 方法

1.2.1 SLP-2蛋白表达的免疫组织化学检测:所有组织均用40 g/L甲醛溶液固定,经脱水、包埋、3 μm厚连续切片。鼠抗人SLP-2单克隆抗体购自美国proteintech公司,稀释度为1:200。即用型一步法(非生物素)检测试剂盒购自迈新公司。操作步骤按试剂盒说明书进行。用PBS代替一抗作阴性对照,用已知阳性片作阳性对照。

1.2.2 免疫组织化学结果判定:免疫组织化学染色由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行评定,判定标准参照文献[9],每张切片根据阳性细胞染色程度及细胞阳性百分数的多少进行分级。计数阳性细胞百分数:没有阳性细胞赋值为0, 1%-25%为1, 26%-50%为2, 51%-75%为3, >75%为4。染色程度根据每张切片的大多数细胞染色特征决定:细胞膜及细胞浆无着色赋值为0,浅黄色为1,黄色为2,棕黄色为3。最终评分由两者分数相乘得到,总值≥8分为高表达, <8分为阴性或低表达。

1.2.3 SLP-2 mRNA表达的RT-PCR检测:细胞总RNA的提取及cDNA第一链合成按照TRIzol试剂盒及逆转录试剂盒(美国Invitrogen公司产品)说明书进行。

用于扩增*SLP-2*基因的上游引物5'-CTG-GAGCCTGGTTTGAACAT-3';下游引物为5'-AGGATCTGGGCCTGTTTCTT-3',扩增片段长度为500 bp。以β-actin为内对照,上游引物为5'-ACACTGTGCCCATCTACGACC-3';下游引物为5'-AGGGGCCGGACTCGTCATAGA-3',扩增片段长度为242 bp。PCR反应体系:2×Taq PCR MasterMix 12.5 μL, β-actin上、下游引物各1 μL, SLP-2上、下游引物各1 μL, cDNA 2 μL, ddH₂O补至25 μL。PCR反应在2400型PCR仪(美国PE公司产品)上进行,预变性:94℃, 5 min,进入循环:94℃、30 s, 55℃、30 s, 72℃、50 s,共30个循环,最后延伸72℃、7 min,获取扩增片段。

1.2.4 RT-PCR结果判定:扩增产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳后,电泳条带图像用Fluor-S MultiImager凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司产品)扫描,用Multi-Analyst软件包(美国Bio-Rad公司产品)定量分析电泳分离的各特异扩增条带的原始A值,以SLP-2与β-actin的A值的比值表示SLP-2 mRNA的相对表达水平。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行统计分析。采用 χ^2 检验及*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌及癌旁正常结肠黏膜中SLP-2蛋白的表达 在50例结肠癌中有35例SLP-2蛋白高表达,在50例癌旁正常结肠黏膜中有11例SLP-2蛋白高表达,高表达率分别为70.0%(35/50)和22%(11/50),差异有统计学意义($\chi^2 = 23.188$, $P = 0.000$)(图1)。

■研发前沿

目前SLP-2与恶性肿瘤的关系及其作用机制是研究的热点。

■相关报道

研究显示, *SLP-2*基因在食管癌、肺癌、子宫内膜癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌等恶性肿瘤中存在高表达。将SLP-2正义核酸和反义核酸导入食管癌、肺癌和子宫内膜癌细胞系,发现SLP-2正义核酸可促进癌细胞增殖、抑制细胞凋亡,并能提高癌细胞的转移能力,而反义核酸的作用相反。

■创新盘点

目前关于SLP-2基因在消化系统肿瘤中表达情况的研究较少,本实验应用RT-PCR法及免疫组织化学法检测了结肠癌及其癌旁正常结肠组织中SLP-2的表达,并结合免疫组织化学结果及结肠癌患者的临床病理资料进行分析。结果提示,SLP-2 mRNA及蛋白在结肠癌组织中均表达升高,且SLP-2蛋白的表达与有无淋巴结转移及TNM分期相关。

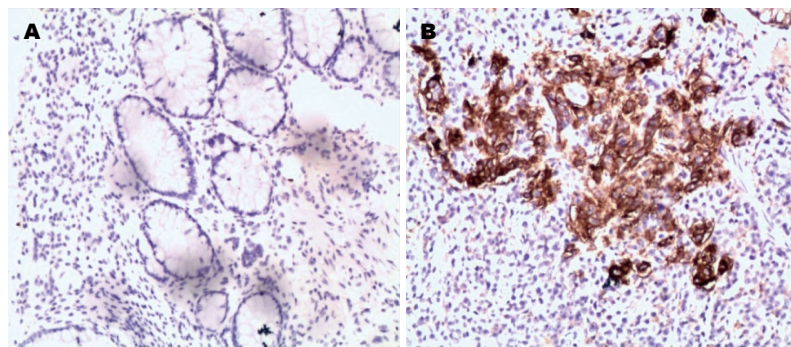


图1 结肠癌配对组织中SLP-2蛋白的表达($\times 100$)。A: 癌旁正常结肠组织; B: 结肠癌组织。

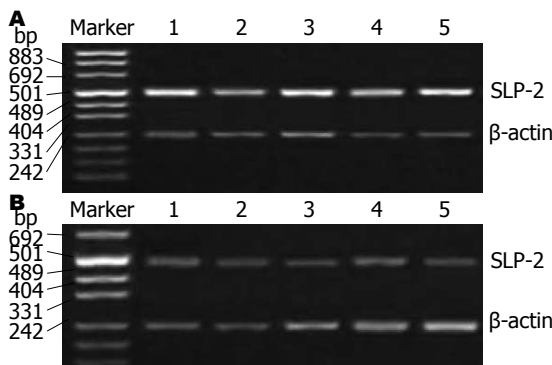


图2 SLP-2 mRNA的表达。A: 结肠癌组织; B: 正常结肠组织。

2.2 结肠癌及癌旁正常结肠黏膜中SLP-2 mRNA的表达 40例结肠癌组织及正常结肠黏膜组织中SLP-2 mRNA表达水平分别为 1.31 ± 0.28 和 0.74 ± 0.16 ,前者较后者明显升高,差异有统计学意义($t = 4.36$, $P = 0.012$)(图2)。

2.3 SLP-2蛋白表达与结肠癌临床病理参数的关系 收集整理50例结肠癌患者的临床病理资料,分析SLP-2蛋白在不同性别、年龄、分化程度、肿瘤大小、TNM分期、转移情况的结肠癌病例中的表达。结果显示,SLP-2蛋白在有淋巴结转移及TNM较晚期病例的结肠癌中表达较高($P = 0.000$ 及 $P = 0.001$),而与其他临床病理特征无明显相关(均 $P > 0.05$)(表1)。

3 讨论

SLP-2基因定位于染色体9p13.1,长约3250 bp,2000年由美国耶鲁大学病理科首次发现,是stomatin家族的一个新成员^[2]。研究推测,SLP-2蛋白是一种细胞质膜相关蛋白,可能作为外周膜蛋白起作用,调控离子通道和脂筏结构^[2,10]。SLP-2还存在于细胞的线粒体中^[11],可能通过与线粒体内膜相关蛋白结合,调节线粒体膜相关蛋白的稳定性^[12,13]。

本实验从mRNA及蛋白水平检测了人结肠癌及癌旁正常结肠黏膜组织中SLP-2基因的表达。结果显示,SLP-2基因在结肠癌中的表达高

表1 SLP-2的表达与结肠癌临床病理参数的关系(n)

分组	n	SLP-2蛋白表达		χ^2 值	P 值
		高	低		
性别				0.004	0.951
男	27	19	8		
女	23	16	7		
年龄(岁)				0.192	0.662
≤ 50	21	14	7		
> 50	29	21	8		
肿瘤大小(cm)				0.066	0.797
≤ 5	32	22	10		
> 5	18	13	5		
分化程度				0.000	1.000
高-中分化	35	24	11		
低分化	15	11	4		
淋巴结转移				19.647	0.000
有	34	31	3		
无	16	4	12		
临床分期				10.474	0.001
I + II	13	4	9		
III + IV	37	31	6		

于正常结肠黏膜组织(均 $P < 0.05$)。且较晚期病例的结肠癌组织中SLP-2蛋白表达高于较早期病例的结肠癌组织,有淋巴结转移的病例中SLP-2蛋白高于无淋巴结转移的病例;而与患者性别、年龄、肿瘤大小、分化程度等因素无明显相关(均 $P > 0.05$)。提示SLP-2可能参与结肠癌的发展和转移。

SLP-2在恶性肿瘤发生发展中的作用机制尚未明确,推测可能与调节细胞信号传导通路及线粒体能量代谢有关。有文献报道,SLP-2蛋白可能通过与Rho家族蛋白的相互作用,参与细胞信号传导通路来调节肿瘤细胞的侵袭转移能力^[14]。祁代华等^[15]的研究也显示,结直肠癌组织中SLP-2和Rho家族CDC42蛋白表达呈正相关,且与结直肠癌的Dukes分期、淋巴结转移相关。此外,转染siRNA降低Hela细胞中SLP-2的表达,可引起线粒体膜电势的降低^[11];转染siRNA降低

■应用要点

本实验结果提示SLP-2可指导结肠癌患者的预后生存,并有可能作为一个新的肿瘤靶向治疗的靶点。

食管癌KYSE150细胞中SLP-2表达后, 细胞线粒体膜电势和ATP水平均降低, 同时伴细胞运动能力和增殖能力减弱^[8], 推测SLP-2可能通过影响细胞的能量代谢参与肿瘤细胞的增殖和转移。

本研究发现SLP-2在结肠癌组织中表达高于正常结肠黏膜组织, 且SLP-2蛋白表达与结肠癌的淋巴结转移和TNM分期相关。TNM分期及淋巴结转移情况是恶性肿瘤预后的相关指标。提示SLP-2可指导结肠癌患者的预后生存, 并有可能作为一个新的肿瘤靶向治疗的靶点。

4 参考文献

- 1 孙燕, 石远凯. 临床肿瘤内科手册. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 491-492
- 2 Wang Y, Morrow JS. Identification and characterization of human SLP-2, a novel homologue of stomatin (band 7.2b) present in erythrocytes and other tissues. *J Biol Chem* 2000; 275: 8062-8071 [PMID: 10713127 DOI: 10.1074/jbc.275.11.8062]
- 3 苏雷, 张建, 魏秀琴, 支修益, 许庆生, 刘芝华. slp2基因的差异表达与肺癌的分化和转移. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 678-680
- 4 Chang D, Ma K, Gong M, Cui Y, Liu ZH, Zhou XG, Zhou CN, Wang TY. SLP-2 overexpression is associated with tumour distant metastasis and poor prognosis in pulmonary squamous cell carcinoma. *Biomarkers* 2010; 15: 104-110 [PMID: 19839737 DOI: 10.3109/13547500903311910]
- 5 冯旺琴, 崔竹梅, 冯凤芝, 祈秀娟, 丁芳, 李文东, 刘芝华. SLP-2 mRNA在子宫内膜癌中的表达及其意义. *中华妇产科杂志* 2005; 40: 553-557
- 6 曹文枫, 张立勇, 张斌, 王跃琦, 刘芝华, 孙保存. SLP-2蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达及其与肿瘤侵袭转移的关系. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 830-833
- 7 Cao W, Zhang B, Liu Y, Li H, Zhang S, Fu L, Niu Y, Ning L, Cao X, Liu Z, Sun B. High-level SLP-2 expression and HER-2/neu protein expression are associated with decreased breast cancer patient survival. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 430-436 [PMID: 17709317 DOI: 10.1309/C6X54HRB580EP2NQ]
- 8 张剑, 李建生, 吴敏, 赵晔. SLP-2在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1778-1781
- 9 Wang Y, Cao W, Yu Z, Liu Z. Downregulation of a mitochondria associated protein SLP-2 inhibits tumor cell motility, proliferation and enhances cell sensitivity to chemotherapeutic reagents. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1651-1658 [PMID: 19597348 DOI: 10.4161/cbt.8.17.9283]
- 10 Sprenger RR, Speijer D, Back JW, De Koster CG, Pannekoek H, Horrevoets AJ. Comparative proteomics of human endothelial cell caveolae and rafts using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Electrophoresis* 2004; 25: 156-172 [PMID: 14730580 DOI: 10.1002/elps.200305675]
- 11 Chevallet M, Lescuyer P, Diemer H, van Dorsselaer A, Leize-Wagner E, Rabilloud T. Alterations of the mitochondrial proteome caused by the absence of mitochondrial DNA: A proteomic view. *Electrophoresis* 2006; 27: 1574-1583 [PMID: 16548050 DOI: 10.1002/elps.200500704]
- 12 Hájek P, Chomyn A, Attardi G. Identification of a novel mitochondrial complex containing mitofusin 2 and stomatin-like protein 2. *J Biol Chem* 2007; 282: 5670-5681 [PMID: 17121834 DOI: 10.1074/jbc.M608168200]
- 13 Da Cruz S, Parone PA, Gonzalo P, Bienvenut WV, Tondera D, Jourdain A, Quadroni M, Martinou JC. SLP-2 interacts with prohibitins in the mitochondrial inner membrane and contributes to their stability. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 904-911 [PMID: 18339324]
- 14 Horiuchi A, Imai T, Wang C, Ohira S, Feng Y, Nikaïdo T, Konishi I. Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma. *Lab Invest* 2003; 83: 861-870 [PMID: 12808121]
- 15 祁代华, 李建生, 王康康. SLP-2和CDC42蛋白在结肠癌组织中的表达及临床意义. *中华消化杂志* 2009; 29: 191-192

■同行评价

本文目标明确, 设计尚合理, 实验数据可靠, 具有一定的创新性, 有一定的科学意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



两种穿刺置管术治疗消化系统肿瘤患者并发症的比较

王晓龙, 张成武, 缪巍, 刘宁, 王成, 马晓明, 马新福

■背景资料

目前, 临床上供中心静脉置管术选择的静脉较多, 但以颈静脉与锁骨下静脉较为多见。传统的置管术在操作时, 往往要求患者取平卧位, 仅在肩背部放置一个薄枕, 使得穿刺时患者的肩部外展。但解剖结构提示, 锁骨下静脉壁与第一肋骨膜、锁骨下肌以及前斜角肌表面的筋膜紧密结合。因此, 加大了置管术的操作难度, 且易引发气胸。

王晓龙, 张成武, 缪巍, 刘宁, 王成, 马晓明, 马新福, 青海大学附属医院胃肠肿瘤外科 青海省西宁市 810001

王晓龙, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤外科的研究。

作者贡献分布: 主要课题设计、数据分析和文章起草由王晓龙完成; 病例选择、临床资料收集和穿刺操作由王晓龙、缪巍、刘宁、王成、马晓明及马新福完成; 文章修改和审阅由张成武完成。

通讯作者: 王晓龙, 主治医师, 810001, 青海省西宁市同仁路29号, 青海大学附属医院胃肠肿瘤外科。13437833@qq.com

收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-08

Clinical effect of improved subclavian vein catheterization versus internal jugular vein catheterization in patients with alimentary canal neoplasms

Xiao-Long Wang, Cheng-Wu Zhang, Wei Miu, Ning Liu, Cheng Wang, Xiao-Ming Ma, Xin-Fu Ma

Xiao-Long Wang, Cheng-Wu Zhang, Wei Miu, Ning Liu, Cheng Wang, Xiao-Ming Ma, Xin-Fu Ma, Department of Gastrointestinal Surgical Oncology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xi'ning 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Xiao-Long Wang, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgical Oncology, Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Xi'ning 810001, Qinghai Province, China. 13437833@qq.com

Received: 2013-05-24 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effect and application value of improved subclavian vein catheterization in patients with alimentary canal neoplasms.

METHODS: One hundred and thirty patients with alimentary canal neoplasms who required deep vein catheterization were divided into either an observation group or a control group. The observation group underwent improved subclavian vein catheterization, while the control group underwent internal jugular vein catheterization. The success rate of catheterization, catheterization time, applicator replacement times, patient discomfort, patient preference, catheterization-related infections, catheter mi-

gration, and inadvertent arterial puncture were compared between the two groups.

RESULTS: Both groups had a high success rate of catheterization, and there was no significant difference in the success rate of catheterization between the two groups (98% vs 100%, $P > 0.05$). The average catheterization time ($19.7 \text{ d} \pm 5.2 \text{ d}$ vs $11.5 \text{ d} \pm 4.2 \text{ d}$, $P < 0.05$), average applicator replacement times ($2.6 \text{ times/wk} \pm 0.7 \text{ times/wk}$ vs $3.7 \text{ times/wk} \pm 1.1 \text{ times/wk}$, $P < 0.05$), and the number of patients developing treatment discomfort (13 vs 65 , $P < 0.05$) differed significantly between the observation group and control group. In addition, the incidences of catheter-related infections, catheter migration, inadvertent arterial puncture, cardiac arrhythmia, pneumothorax, puncture site bleeding or exudate were better in the observation group than in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Compared to internal jugular vein catheterization, improved subclavian vein catheterization is associated with longer catheterization time and fewer complications in patients with alimentary canal neoplasms.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Alimentary canal neoplasms; Improved subclavian vein catheterization; Internal jugular vein catheterization

Wang XL, Zhang CW, Miu W, Liu N, Wang C, Ma XM, Ma XF. Clinical effect of improved subclavian vein catheterization versus internal jugular vein catheterization in patients with alimentary canal neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2232-2236 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2232.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2232>

摘要

目的: 观察改良式锁骨下静脉置管术在消化系统肿瘤患者临床治疗中的效果及应用价值。

方法: 对130例需要进行深静脉置管的消化系统肿瘤患者进行不同置管术的临床观察, 观察组给予改良式锁骨下静脉置管术, 对照组给予颈

■同行评议者

秦环龙, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院外科; 喻春钊, 教授, 主任医师, 南京医科大学第二附属医院普通外科九区

内静脉置管术. 观察比较两组置管成功率、导管留置时间、敷贴更换次数、患者不适感、患者偏爱、导管相关性感染、导管异位、误穿动脉等情况.

结果: 两组置管术均有较高的成功率, 观察组为98%, 对照组为100%, 两组差异无统计学意义($P>0.05$). 观察组置管成功64例, 平均导管留置时间 $19.7\text{ d}\pm 5.2\text{ d}$, 更换敷贴平均次数 $2.6\text{ 次/wk}\pm 0.7\text{ 次/wk}$, 13例患者治疗期间发生不适; 对照组置管成功65例, 平均导管留置时间 $11.5\text{ d}\pm 4.2\text{ d}$, 更换敷贴平均次数 $3.7\text{ 次/wk}\pm 1.1\text{ 次/wk}$, 49例患者治疗期间发生不适. 上述资料除置管成功例数外, 差异均有统计学意义($P<0.05$). 此外, 在比较导管相关性感染、导管异位、误穿动脉、心率失常、气胸、穿刺点渗血或渗液等并发症方面, 观察组均优于对照组($P<0.05$).

结论: 对消化系肿瘤临床治疗中采用改良式锁骨下静脉置管术, 具有留置时间长、并发症少等特点, 值得临床推广.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 消化系肿瘤; 改良式锁骨下静脉置管术; 颈内静脉置管术

核心提示: 本研究显示, 改良式锁骨下静脉置管术与颈静脉置管术均有较高的置管成功率. 说明现有操作技术下, 两种置管术均技术成熟. 但是, 通过对置管一般情况进行分析, 可以发现, 采用改良式锁骨下静脉置管术, 可以提高导管的留置时间, 从而减少更换敷贴的次数, 大大减少患者的痛苦. 充分说明改良式锁骨下静脉置管术对患者造成的不良影响较小, 且长期留置时, 更为安全可靠.

王晓龙, 张成武, 缪巍, 刘宁, 王成, 马晓明, 马新福. 两种穿刺置管术治疗消化系肿瘤患者并发症的比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(22): 2232-2236 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2232.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i22.2232>

0 引言

静脉置管是目前临床上常用的一种输液及相关急救治疗的手段, 其目的是给予需要长期输液治疗或血管条件不佳的患者建立可以长期使用的输液通道, 避免了长期多次进行静脉扎针的痛苦^[1]. 由于静脉置管放置的时间较长, 容易引发静脉置管相关性血液感染, 有研究显示^[2,3], 其

引发的相关性血液感染是目前院内三大感染之一, 约占总感染数的60%. 因此, 如何有效控制静脉置管相关性血液感染是目前重要的临床任务. 锁骨下静脉置管以及颈内静脉置管是目前临床上应用最多的两种置管术, 但长期的临床经验提示, 两种置管术都具有明显的缺点. 其中颈内静脉置管容易发生脱落, 而锁骨下静脉置管易引发气胸^[4,5]. 我院通过改进锁骨下静脉置管, 创立了改良式锁骨下静脉置管术, 在消化道肿瘤置管患者中取得了良好的临床效果, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究病例130例, 均为2012-01/2012-12我科(胃肠肿瘤外科)住院患者. 所有患者均为已经病理检测, 诊断为消化系统恶性肿瘤. 根据数字随机分组原则进行临床分组, 其中观察组65例, 采用改良式锁骨下静脉置管术; 对照组65例, 采用颈内静脉置管术. 观察组中, 男性8例, 女27例, 年龄27-79岁, 平均年龄 $51.2\text{ 岁}\pm 14.2\text{ 岁}$; 对照组中, 男37例, 女28例, 年龄31-81岁, 平均年龄 $51.0\text{ 岁}\pm 14.4\text{ 岁}$. 对两组患者的性别、年龄等资料进行统计学分析, 差异并无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 操作: 本研究中心静脉导管均为美国Arrow公司生产, 为16 Ga一次性单腔中心静脉导管. (1)改良式锁骨下静脉置管术: 穿刺位置选为右侧锁骨下静脉, 嘱咐患者取去枕平卧位, 头高脚低, 头颈向右靠拢并转向左侧. 穿刺前进行常规碘伏消毒、铺巾, 麻醉采用局部麻醉. 先找到锁骨中外1/3处, 并沿着该处下移3 cm, 此处即为锁骨下静脉穿刺点. 取出中心静脉导管, 针头与胸壁呈15度进针, 进针长度约为8 cm左右, 当导管内见到回血时提示穿刺成功. 穿刺后回抽一定量的血液, 检测回抽是否顺畅. 如顺畅, 置入20 cm左右长的导丝进入上腔静脉, 并置入中心静脉导管, 长度约为15 cm左右. 完毕后使用肝素盐水通管, 肝素帽封管, 接补液顺畅, 固定导管. 若穿刺不顺, 连续3次未能置入导管, 或回血不畅时, 应停止穿刺, 改用其他方式进行置管; (2)颈内静脉置管术: 置管采用右侧中间径路法, 嘱咐患者取去枕平卧位, 头高脚低, 头转向左侧. 首先找到胸锁乳突肌三角顶点, 并进行标记, 触摸颈内动脉明确其与标记点的关系. 穿刺前进行常规碘伏消毒、铺巾, 麻醉采用局部浸润麻醉. 取出

■ 研究前沿

中心静脉置管相关性血液感染是目前国内外备受关注的院内感染, 感染的发生常常与人为因素相关. 不规范的操作和错误的后续处理是当前引发感染的重要原因.

■相关报道

研究表明,中心静脉置管装置上的肝素帽是引发感染主要原因之一,长期的使用中心静脉置管,细菌容易从外部沿肝素帽的接头处进入导管并且在导管内得到繁殖,最终细菌随血液进入体内,引发感染。

表 1 两组患者置管留置情况比较 ($n = 65$, mean \pm SD)

分组	置管成功 (n)	导管平均留置时间 (d)	更换敷贴平均次数 (次/wk)	患者不适 (n)
观察组	64	19.7 \pm 5.2	2.6 \pm 0.7	13
对照组	65	11.5 \pm 4.2	3.7 \pm 1.1	49
t/χ^2	1.01	9.89	6.80	39.96
P 值	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 两组患者治疗期间主要置管并发症比较 (n)

分组	n	感染	异位	误穿动脉	堵塞	脱出	气胸	渗血或渗液
观察组	64	12	4	1	9	3	1	11
对照组	65	25	0	7	10	4	0	21
χ^2 值		6.38	4.13	4.80	0.06	0.15	0.97	4.15
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

中心静脉导管,针头与穿刺部位皮肤呈30度进针,进针时小心谨慎,避免误穿刺到动脉。穿刺时,边进针,边回抽,当导管内见到回血时提示穿刺成功。穿刺后回抽一定量的血液,检测回抽是否顺畅。如顺畅,置入20 cm左右长的导丝进入颈静脉,并置入中心静脉导管,长度约为12 cm左右。完毕后使用肝素盐水通管,肝素帽封管,接补液顺畅,固定导管。

1.2.2 观察指标:对两组患者住院期间置管成功率、导管留置时间、更换敷贴次数、患者不适度、导管相关性感染、导管异位、误穿动脉等进行观察,并记录。

1.2.3 此次置管不适度评价:0度:穿刺时无任何不适感;I度:穿刺时有轻微不适,但对睡眠无影响;II度:穿刺时存在严重不适感及恐惧感,穿刺后严重影响睡眠。

1.2.4 更换敷贴原则:置管后24-48 h更换第1次敷贴,而后应每7 d更换1次。在敷贴被污染(或可疑污染)、过多血迹、潮湿、脱落时给予更换。

统计学处理 应用SPSS15.0软件,计量资料以mean \pm SD表示,均数比较采用 t 检验、方差因素分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者置管留置情况比较 观察组置管成功率为98%,对照组为100%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。而在导管留置平均时间、更换服帖平均次数、患者不适度等方面,观察组均优于对照组,两组比较差异有统计学意义

($P<0.05$)(表1)。观察组置管成功64例,平均导管留置时间19.7 d \pm 5.2 d,更换敷贴平均次数2.6次/wk \pm 0.7次/wk,13例患者治疗期间发生不适;对照组置管成功65例,平均导管留置时间11.5 d \pm 4.2 d,更换敷贴平均次数3.7次/wk \pm 1.1次/wk,49例患者治疗期间发生不适。上述资料除置管成功例数外,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 两组患者治疗期间主要置管并发症比较 本研究统计了两组患者导管相关性感染、导管异位、误穿动脉、导管堵塞、导管脱出以及穿刺点渗血或渗液等置管相关性并发症,发现两组患者除导管堵塞、导管脱出差异无统计学意义($P>0.05$)外,其他置管相关并发症,观察组均明显少于对照组,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

目前,临床上供中心静脉置管术选择的静脉较多,但以颈静脉与锁骨下静脉较为多见^[6]。传统的置管术在操作时,往往要求患者取平卧位,仅在肩背部放置一个薄枕,使得穿刺时患者的肩部外展。但解剖结构提示,锁骨下静脉壁与第一肋骨膜、锁骨下肌以及前斜角肌表面的筋膜紧密结合。因此,加大了置管术的操作难度,且易引发气胸^[7,8]。因此,我们对锁骨下静脉置管术进行了一定程度的改良,其主要变化在于保持患者的后枕部与背部在同一平面,并使患者头颈稍稍向右侧靠拢并转向左侧。在临床操作中,我们发现这样能够使得颈内静脉与锁骨下静脉的夹角变小,从而较大程度上预防导管异位,进入

同侧颈内静脉内。此外, 改良式锁骨下静脉置管术将穿刺地点选择在了锁骨中外1/3下3 cm左右处, 不但能够减少因第一前肋与锁骨之间夹角过小而误穿动脉等并发症。而且, 确保穿刺针在第二肋、第一肋和胸膜顶组成的胸廓额面上方平行进针, 较少损伤锁骨下动脉。改良式锁骨下静脉置管术与传统锁骨下静脉置管术相比, 改良了穿刺的部位以及进针方向, 根据锁骨和第一肋的夹角的具体情况选择进针点, 以锁骨后缘为支点, 强调穿刺针紧贴锁骨后缘, 有利于使穿刺针与胸廓额面保持平行和控制穿刺角度, 且穿刺针入锁骨下静脉点明确。改良式锁穿不强调“点”的概念, 而是以“面”代“点”, 便于临床准确操作^[9,10]。

中心静脉置管相关性血液感染是目前国内外备受关注的院内感染, 感染的发生常常与人为因素相关^[11]。不规范的操作和错误的后续处理是当前引发感染的重要原因。研究表明^[12], 中心静脉置管装置上的肝素帽是引发感染主要原因之一, 长期的使用中心静脉置管, 细菌容易从外部沿肝素帽的接头处进入导管并且在导管内得到繁殖, 最终细菌随血液进入体内, 引发感染。此外, 中心静脉置管相关性血液感染还与环境、置管时无菌操作不严格、技术不熟练、术后护理不当和置管时间过长等有关^[13]。

本研究显示, 改良式锁骨下静脉置管术与颈静脉置管术均有较高的置管成功率。说明现有操作技术下, 两种置管术均技术成熟。但是, 通过对置管一般情况进行分析, 可以发现, 观察组置管成功64例, 平均导管留置时间 $19.7 \text{ d} \pm 5.2 \text{ d}$, 更换敷贴平均次数 $2.6 \text{ 次/wk} \pm 0.7 \text{ 次/wk}$, 13例患者治疗期间发生不适; 对照组置管成功65例, 平均导管留置时间 $11.5 \text{ d} \pm 4.2 \text{ d}$, 更换敷贴平均次数 $3.7 \text{ 次/wk} \pm 1.1 \text{ 次/wk}$, 49例患者治疗期间发生不适。上述资料除置管成功例数外, 差异均有统计学意义。说明采用改良式锁骨下静脉置管术, 可以提高导管的留置时间, 从而减少更换敷贴的次数, 大大减少患者的痛苦。充分说明改良式锁骨下静脉置管术对患者造成的不良影响较小, 且长期留置时, 更为安全可靠。感染、导管异位、堵塞、脱出、误穿动脉、心率失常、气胸、穿刺点渗血或渗液等是两组患者置管过程中主要出现的并发症。通过比较, 可以发现, 在比较导管相关性感染、导管异位、误穿动脉、心率失常、气胸、穿刺点渗血或渗液等并发症方面, 观察组均优于对照组。传统锁骨下静脉置

管术, 穿刺深度一般在2.5-4.0 cm左右, 而改良锁骨下静脉置管术, 穿刺深度则为5.0-8.0 cm左右。延长了皮肤穿刺点与静脉进针点的距离, 能够防止细菌从皮肤进入深静脉, 从而减少了感染的出现。改良锁骨下静脉置管术将穿刺点选择下移, 不但远离锁骨下静脉与颈内静脉汇合处, 又缩小穿刺针尾与颈内静脉的夹角, 可减少导管异位入颈内静脉的可能。导丝或导管置入过长可导致心律失常等并发症。本研究中, 对于发生胸闷、心慌、气促等不良反应的患者, 处理时可将导管外拔1-2 cm, 均可以起到缓解症状的作用。此外, 通过临床观察, 我们还发现当导丝控制在20 cm及导管在15 cm以内一般不会引起心率失常等症状。因此, 在掌握解剖结构和操作手法熟练的前提下, 改良式锁穿术操作容易、置管成功率高、并发症少、导管留置时间长, 尤其在预防导管相关性感染中具有显著作用, 在普通病房操作安全易行。

此外, 临床上还应建立中心静脉置管的合理制度^[14,15]。(1)对所有能够操作中心静脉置管的医务人员进行资格考核, 对申请资格考试的医务人员分别进行理论和操作的考核, 通过考核的医务人员才具备相应的中心静脉置管操作资格;(2)查阅国内外最新的文献, 规范中心静脉置管的操作流程, 对实际操作中的适应证、禁忌证、注意事项等逐一进行归纳;(3)科学的进行中心静脉置管部位以及导管规格的选择, 而不是选择省事、方便的部位和导管;(4)严格执行无菌操作, 如因患者无法自行行动或搬动, 所有的操作均应该于消毒的换药室内进行;(5)中心静脉置管放置后, 应注意每次使用后的消毒, 当辅料出现明显的湿润或者被污物污染, 应该做到及时的更换;(6)如果患者出现不明原因的发热, 并出现感染征象时, 应该及早拔管。

总之, 改良式锁骨下静脉置管术在消化道肿瘤的静脉置管中具有置管成功率高、留置时间长、并发症少等特点, 值得在消化系肿瘤外科临床上推广应用。

4 参考文献

- 1 陈俊, 赵劲懂, 葛许华, 喻文亮. 危重患儿中心静脉置管65例. 实用儿科临床杂志 2012; 27: 1421-1423
- 2 Ruesch S, Walder B, Tramèr MR. Complications of central venous catheters: internal jugular versus subclavian access--a systematic review. *Crit Care Med* 2002; 30: 454-460 [PMID: 11889329 DOI: 10.1097/00003246-200202000-00031]
- 3 孙大为, 陈赛, 周晓红. 锁骨下静脉置管术385例. 贵阳医学院学报 2012; 37: 296-297

■创新盘点

有研究显示, 静脉置管引发的相关性血液感染是目前院内三大感染之一, 约占总感染数的60%。因此, 如何有效控制静脉置管相关性血液感染是目前重要的临床任务。

■同行评价

本文报道了消化系统肿瘤临床治疗中改良式锁骨下静脉置管术效果分析,对基层医院普及此项技术有一定作用。

- 4 Boon JM, van Schoor AN, Abrahams PH, Meiring JH, Welch T, Shanahan D. Central venous catheterization -- an anatomical review of a clinical skill -- Part 1: subclavian vein via the infraclavicular approach. *Clin Anat* 2007; 20: 602-611 [PMID: 17415720 DOI: 10.1002/ca.20486]
- 5 邹丽娟. 经外周中心静脉置管术与经锁骨下静脉置管术在老年肿瘤患者中的应用比较. *中国基层医药* 2011; 18: 62-64
- 6 黄世容, 李永平, 禹猛, 王春生, 王文赋. 优选锁骨下静脉穿刺置管术. *中国危重病急救医学* 2012; 24: 67
- 7 Kline AM. Pediatric catheter-related bloodstream infections: latest strategies to decrease risk. *AACN Clin Issues* 2005; 16: 185-198; quiz 272-274 [PMID: 15876887 DOI: 10.1097/00044067-200504000-00010]
- 8 苏明华, 冯璇璘, 邓磊, 李依, 李俊英, 宋孟龙, 董芸. 简易三指定位法在锁骨下静脉穿刺置管术中的应用. *中华急诊医学杂志* 2012; 21: 760-762
- 9 余水, 刘云兴. 颈内、锁骨下静脉穿刺中心静脉置管术在急诊患者中的应用. *现代中西医结合杂志* 2012; 21: 1090, 1094
- 10 Bacuzzi A, Cecchin A, Del Bosco A, Cantone G, Cuffari S. Recommendations and reports about central venous catheter-related infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2006; 7 Suppl 2: S65-S67 [PMID: 16895510 DOI: 10.1089/sur.2006.7.s2-65]
- 11 胡占升, 于学江. 三种不同途径经皮深静脉置管术临床应用分析. *中国全科医学* 2010; 13: 642-643
- 12 Al-Hwiesh AK, Abdul-Rahaman IS. Tunneled femoral vein catheterization for long term hemodialysis: a single center experience. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007; 18: 37-42 [PMID: 17237889]
- 13 Ambesh SP, Dubey PK, Matreja P, Tripathi M, Singh S. Manual occlusion of the internal jugular vein during subclavian vein catheterization: a maneuver to prevent misplacement of catheter into internal jugular vein. *Anesthesiology* 2002; 97: 528-529 [PMID: 12151957 DOI: 10.1097/00000542-200208000-00050]
- 14 秦春妮, 黑飞龙. 体外循环心脏术后消化系统并发症的防治进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1318-1322
- 15 谢正勇, 程黎阳, 张玉新, 康慧鑫. 快速康复外科对胃癌手术患者临床指标及术后并发症的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 327-331

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)

肺肉瘤样癌回肠转移并出血坏死1例

荣万水, 王云帆, 于明川

荣万水, 北京大学首钢医院普通外科 北京市 100144
王云帆, 北京大学首钢医院病理科 北京市 100144
于明川, 北京大学首钢医院影像中心 北京市 100144
荣万水, 主要从事胃肠道、乳腺及肝、胆、胰、脾等系统疾病的治疗。
北京市自然科学基金资助项目, No. 7132081
北京市科学技术委员会基金资助项目, No. z131107002213103
作者贡献分布: 本文由荣万水负责病案整理及论文撰写; 王云帆负责病理资料的采集; 于明川负责影像学资料的采集
通讯作者: 荣万水, 主任医师, 100144, 北京市石景山区晋元庄路9号, 北京大学首钢医院普通外科。
rongwanshui1968@sina.com
电话: 010-57830366
收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-15
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-08

Ileal metastasis of pulmonary sarcomatoid carcinoma with hemorrhagic necrosis: A case report

Wan-Shui Rong, Yun-Fan Wang, Ming-Chuan Yu

Wan-Shui Rong, Department of General Surgery, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100144, China
Yun-Fan Wang, Department of Pathology, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100144, China
Ming-Chuan Yu, Medical Imaging Center, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100144, China
Supported by: Beijing Municipal Natural Science Foundation, No. 7132081; Beijing Municipal Science and Technology Commission, No. z131107002213103
Correspondence to: Wan-Shui Rong, Chief Physician, Department of General Surgery, Peking University Shougang Hospital, 9 Jinyuanzhuang Road, Shijingshan District, Beijing 100144, China. rongwanshui1968@sina.com
Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-15
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-08

Abstract

Pulmonary sarcomatoid carcinoma (PSC) is a rare clinical entity, and small intestine metastases of PSC are even rarer. Here we report a case of ileal metastasis of PSC with hemorrhage and necrosis. The surgeon should raise their awareness of this rare tumor. Lung cancer can transfer to various tissues and organs, and digestive tract metastases of lung cancer are not rare. Clinical manifestations of PSC are not specific, and small intestine metastases of PSC can cause intestinal obstruction, intussusceptions, intestinal necrosis and perforation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Lung; Sarcomatoid carcinoma; Ileal metastasis; Diagnosis; Treatment

Rong WS, Wang YF, Yu MC. Ileal metastasis of pulmonary sarcomatoid carcinoma with hemorrhagic necrosis: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(22): 2237-2240
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2237.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2237>

摘要

肺肉瘤样癌(lung sarcomatoid carcinoma, LSC)临床少见, LSC小肠转移临床报道罕见, 本例患者为LSC回肠转移伴出血坏死, 外科医师要拓宽思路, 肺癌可以转移至全身各个组织、器官, 肺癌消化系转移并非罕见。LSC临床表现无特异性, 发生小肠转移时同样可以引起肠梗阻、肠套叠甚至肠坏死、穿孔。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肺; 肉瘤样癌; 回肠转移; 诊断; 治疗

核心提示: 肺癌可以转移至全身各处组织、器官, 肿瘤的转移可以是肿瘤结构内任何组织成分的转移。肺癌小肠转移的发生率比我们想象的高。当肺癌患者出现一些非特异性的症状如腹胀、腹痛、腹泻以及进行性的贫血等症状时, 应高度怀疑胃肠道转移的可能。

荣万水, 王云帆, 于明川. 肺肉瘤样癌回肠转移并出血坏死1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(22): 2237-2240 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2237.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i22.2237>

0 引言

肺肉瘤样癌(lung sarcomatoid carcinoma, LSC)是一种含有肉瘤样成分的低分化非小细胞肺癌, 临床少见, 原发于肺部的肉瘤样癌(sarcomatoid carcinoma, SC)占肺部恶性肿瘤的0.3%-4.7%^[1,2]. 转移性小肠肿瘤临床罕见, 来源于LSC的小肠转移性SC就更为罕见, 我们检索文献, 至今报道LSC小肠转移仅6例^[3-6], 国内尚无相关报道。本

■背景资料

作者在临床上遇到一例肺肉瘤样癌(lung sarcomatoid carcinoma, LSC)回肠转移并出血坏死患者, 检索文献, 肺癌可以转移至全身任何组织、脏器, 肺癌小肠转移临床少见, 完全以肉瘤样癌成分转移至小肠的病例更为罕见, 本文提示临床医师注意肺癌所有病理类型均可发生小肠转移。

■同行评议者

侯风刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属市中医院肿瘤科

■相关报道

Hsu等报道一例LSC小肠转移并套叠的患者。Bal-dassarre等报道3例LSC空肠转移并穿孔患者,指出治疗措施需要包括放疗在内的综合治疗,但预后差。Felsher等报道1例LSC空肠转移并梗阻患者,对该患者实施了腹腔镜肠切除肠吻合术。

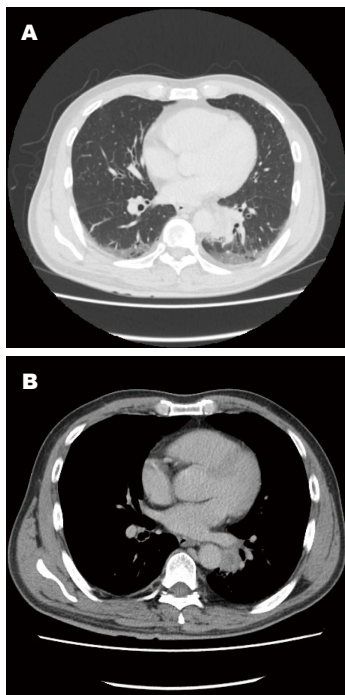


图1 左肺下叶肺癌。A: 肺窗影像; B: 纵膈窗影像。

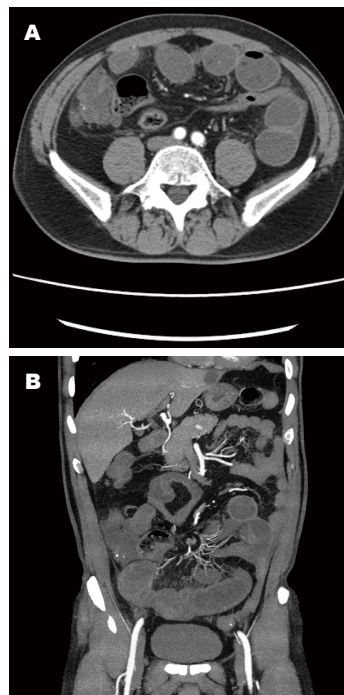


图3 小肠梗阻、肠管扩张、水肿。A: 横断面影像; B: 冠状位影像。

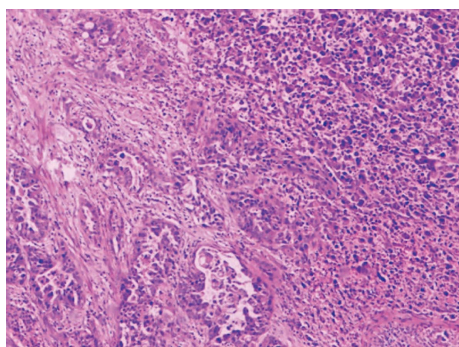


图2 肺部占位, 病理可见肉瘤样癌成分(H&E × 40)。



图4 回肠肠壁出血、坏死。

文报道LSC小肠转移1例。

1 病例报告

男, 57岁, 慢性起病。既往吸烟约40年, 40支/d。患者于2012-06因刺激性咳嗽、咳痰1 mo, 痰中带血1 wk入院。胸部CT扫描示: 左肺下叶结节, 考虑肺癌可能, 间隔旁肺气肿、局部肺大泡, 右肺胸膜下小结节(图1)。入院体检: 全身浅表淋巴结无肿大, 双肺听诊呼吸音清, 查体无特殊。血常规、尿便常规、肿瘤标志物等实验室检查无明显异常。于2012-06行左肺下叶切除、系统淋巴结清扫术。术后病理: 左下肺结节型腺鳞癌, 部分区域呈SC分化; 肿瘤大小约3.5 cm×3.0 cm×3.0 cm, 癌侵至肺被膜; 支气管断端未见癌; 支气管旁淋巴结可见癌转移。NUT-1免疫组织化学染色结果: CK7(部分+), P63(部分+), CK8和CK18(部分+), CD56(-), CD34(-), Ki-67(80%+), TTF1(部

分+)(图2)。手术前后腹、盆部CT扫描未见占位性病变。手术后化疗: 紫杉醇+卡铂方案化疗3个疗程。复查CT疗效评价为病情进展。2012-09患者无明显诱因出现右侧腹部疼痛, 伴恶心、频繁呕吐, 急查腹部CT(图3)提示“急性肠梗阻”并收入院。当日急诊行剖腹探查, 术中见回肠末段距回盲部约30 cm肠管对系膜缘肠壁红肿, 局部有一约2 cm破溃, 肠壁肿胀, 周围肠管粘连聚集, 肿物浸润浆肌层及小肠系膜(图4)。行回肠肿物切除术、端端吻合术, 将切除标本剪开, 黏膜未见明显浸润。病理会诊示: 回肠溃疡型SC, 癌从肠系膜及浆膜浸润肠壁至外肌层, 癌未侵及浅肌层、黏膜下层及黏膜层, 脉管内未见明显癌栓, 癌未见侵及神经, 肠周淋巴结未见癌转移。免疫组织化学示CK(-)、EMA(+), CK5(-), CK8(-), CK18(-), TTF1(-), P63(-), CK7(-), NapsinA(-), Vimentin(+), LCA(-), CD34(血管

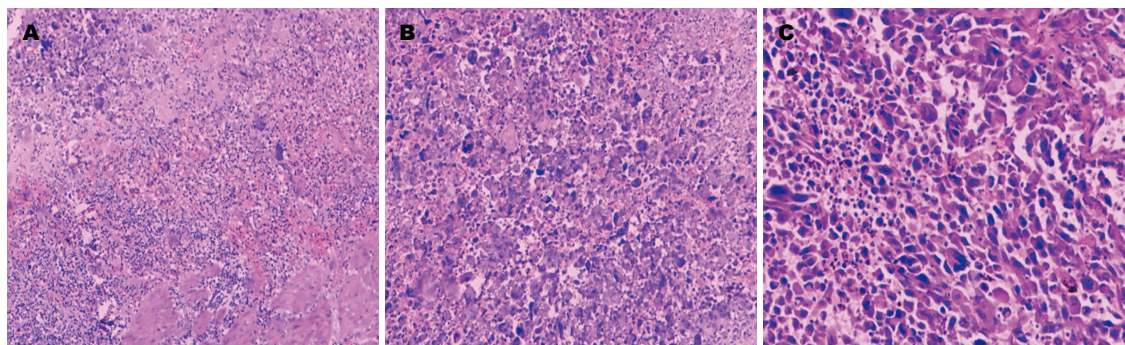


图5 免疫组织化学结果. A: 小肠占位, 病理可见高度异型的肿瘤细胞浸润肠壁肌层(HE, ×40). B, C: 肺部和小肠占位的肿瘤细胞形态一致, 均为肉瘤样癌(HE, ×60).

■应用要点

临床医师要高度重视肺癌小肠转移情况, 肺癌患者一旦出现腹痛、恶心、呕吐、便血等症, 及早进行影像学检查, 以明确诊断. 非手术治疗无效时, 应及时手术.

+) (图5). (复习前次肿瘤切片, 本次肠肿瘤细胞形态学与肺肿瘤相像, 结合病史, 符合肺癌转移至回肠; 本次标本肿瘤细胞从肠壁外向内累及外肌层, 未见到鳞状细胞及腺样结构, 全部为SC). 术后6 wk, 患者全身多处转移, 死亡.

2 结果

SC是一种癌和肉瘤样形态混合于一个瘤体内的恶性肿瘤, 发生在全身许多部位, 以上呼吸道、肺、乳腺和肾常见. 2004年WHO肺肿瘤分类将肺癌分为鳞状细胞癌、小细胞癌、腺癌、大细胞癌、腺鳞癌、肉瘤样癌即SC、类癌、唾液腺型肿瘤8个类型, 其中SC被定义为含有肉瘤样成分的低分化非小细胞肺癌^[7].

LSC多为中老年男性, 平均年龄60岁左右, 男女比例约7.25:1, LSC的临床表现无特异性, 也主要表现为咳嗽、咳痰、痰中带血、胸痛等, 症状与发生部位有关. 肿瘤大小在确诊时平均约为7 cm, 且往往已有转移^[8]. LSC的首选治疗方法是手术, 术后可辅助化疗, 但预后极差, Vidal Losada等^[9]研究认为, 发生转移的LSC的6 mo生存率仅为27%左右.

转移性小肠肿瘤主要为原发恶性肿瘤细胞通过腹腔种植、血行播散和淋巴管播散至小肠肠壁形成转移, 临床少见, 原发病灶可来源于宫颈癌、恶性黑色素瘤、大肠癌、卵巢癌、肾癌、胃癌、肺癌及皮肤癌等, 转移灶多见于回肠, 尤其是末端回肠, 其次为空肠, 十二指肠较少见^[10].

肺癌患者中, 所有的病理类型均可发生小肠转移, 但LSC小肠转移的报道非常罕见, 国内尚无相关报道. Yoshimoto等^[11]认为, 肺癌小肠转移其实并不少见, 近年来临床报道病例增多的主要原因可能为: (1)肺癌治疗的进步, 尤其是化疗的发展, 患者长期带瘤生存; (2)内镜和CT扫描日

益普及; (3)免疫组织化学技术在病理中的应用. 就目前而言, 腹部增强CT扫描和内镜是发现肺癌消化系统转移的有效方法.

总之, 临床医师要提高对LSC和小肠转移性肿瘤的认识, 做到早诊断、早治疗. 此病例给予临床医师的启示: (1)肿瘤的转移可以是肿瘤结构任何组织成分的转移, 本例中转移成分未见到鳞状细胞及腺样结构, 全部为肉瘤样结构; (2)肺癌小肠转移的发生率比我们想象的高. 当肺癌患者出现一些非特异性的症状如腹胀、腹痛、腹泻, 以及进行性的贫血等症状时, 应高度怀疑胃肠道转移的可能; (3)对切除的肿瘤组织应常规做免疫组织化学检查; (4)对于肺癌小肠转移的患者, 可行小肠姑息性切除手术.

3 参考文献

- Pelosi G, Sonzogni A, De Pas T, Galetta D, Veronesi G, Spaggiari L, Manzotti M, Fumagalli C, Bresola E, Nappi O, Viale G, Rosai J. Review article: pulmonary sarcomatoid carcinomas: a practical overview. *Int J Surg Pathol* 2010; 18: 103-120 [PMID: 19124452 DOI: 10.1177/1066896908330049]
- Koss MN, Hochholzer L, Frommelt RA. Carcinosarcomas of the lung: a clinicopathologic study of 66 patients. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 1514-1526 [PMID: 10584705 DOI: 10.1097/00000478-199912000-00009]
- Hsu YF, Huang CY, Chen TJ, Chou YH. Small bowel intussusception due to metastatic intestinal carcinosarcoma from a pulmonary primary. *Int Med Case Rep J* 2011; 4: 1-5 [PMID: 23754896]
- Baldassarre E, Maggi P, Ramieri MT, Torino G, Graziano P, Barone M, Siani A. Jejunal perforation secondary to metastatic sarcomatoid carcinoma of the lung. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2008; 54: 225-228 [PMID: 18319694]
- Eng J, Sabanathan S. Carcinosarcoma of the lung with gastrointestinal metastasis. Case report. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 26: 161-162 [PMID: 1439648 DOI: 10.3109/1401743920909072]
- Felsher J, Brodsky J, Brody F. Laparoscopic small bowel resection of metastatic pulmonary carcinosarcoma. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2003; 13:

■同行评价

LSC小肠转移临床罕见, 临床医师需要提高对LSC及转移性小肠肿瘤的认识。肺癌小肠转移并非临床罕见, 但报道较少, 说明这是临床易忽略的问题。本文选题新颖, 对肺癌小肠转移在诊断、治疗上具有指导意义。

- 397-400 [PMID: 14733704 DOI: 10.1089/109264203322656478]
- 7 Richard SM, Vinary K, Abul KA. Robbins basic pathology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Inc, 2007: 174-182
- 8 Yang CJ, Hwang JJ, Kang WY, Chong IW, Wang TH, Sheu CC, Tsai JR, Huang MS. Gastro-intestinal metastasis of primary lung carcinoma: clinical presentations and outcome. *Lung Cancer* 2006; 54: 319-323 [PMID: 17010474 DOI: 10.1016/j.lungcan.2006.08.007]
- 9 Vidal Losada MJ, Bernal Monterde V, Amores Arriaga B, Ferrer Pérez AI, Serrano Solares S, Tobeña

- Puyal M. Lung carcinosarcoma. *Clin Transl Oncol* 2010; 12: 303-305 [PMID: 20462841 DOI: 10.1007/s12094-010-0508-6]
- 10 McNeill PM, Wagman LD, Neifeld JP. Small bowel metastases from primary carcinoma of the lung. *Cancer* 1987; 59: 1486-1489 [PMID: 3028602 DOI: 10.1002/1097-0142(19870415)59:8<1486::AID-CNCR2820590815>3.0.CO;2-W]
- 11 Yoshimoto A, Kasahara K, Kawashima A. Gastro-intestinal metastases from primary lung cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 3157-3160 [PMID: 17079136 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.08.030]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念 and 设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄缘 教授
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

李革 副教授
延边大学附属医院

刘丽江 教授
江汉大学医学院

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

倪才方 教授
苏州大学附属第一医院介入科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

邵先玉 教授
泰山医学院附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

唐必光 教授
遵义医学院附属医院

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

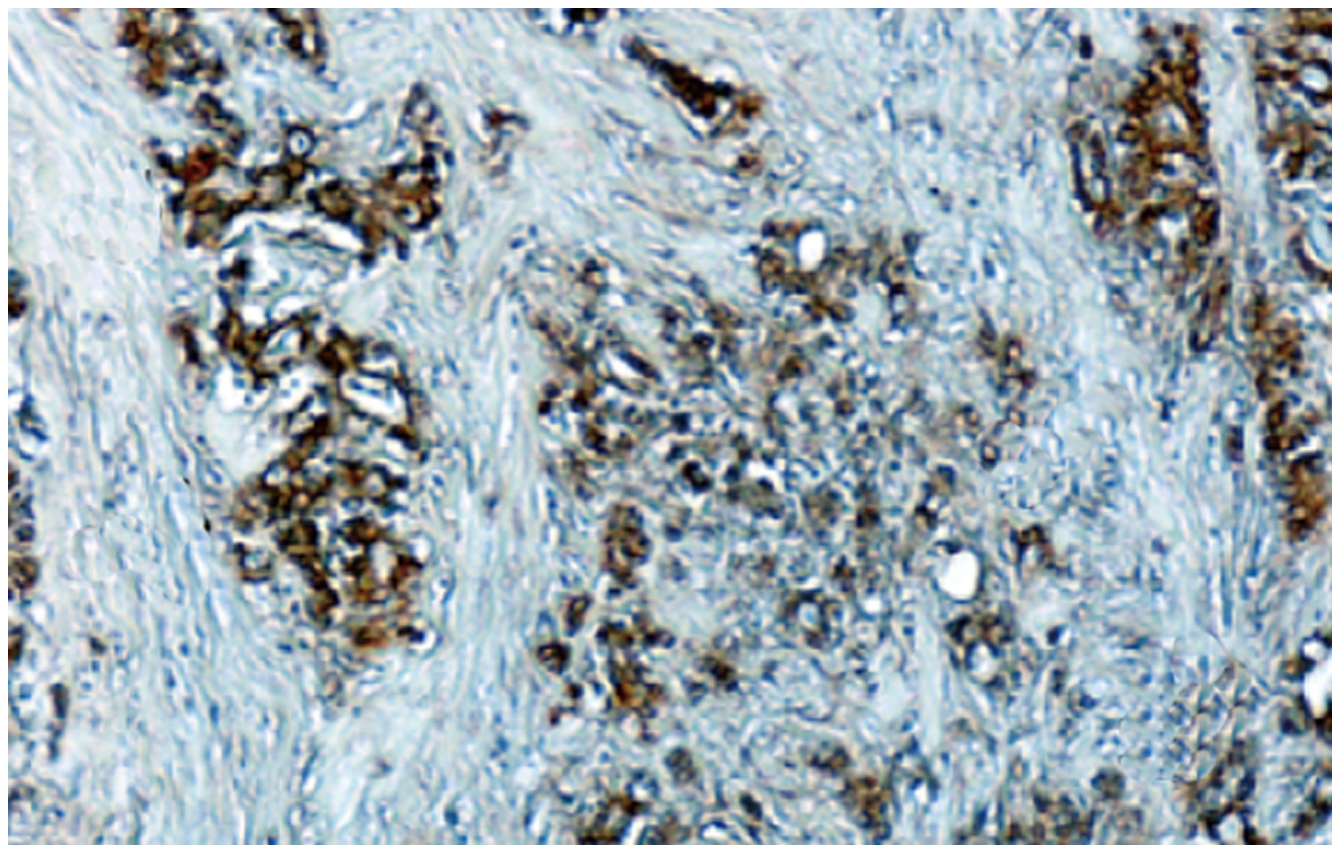


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 8 月 18 日 第 21 卷 第 23 期 (Volume 21 Number 23)



23 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赧宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年8月18日 第21卷 第23期 (总第427期)

基础研究

- 2241 上调*CDX2*基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响
张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 丁伟峰, 周国雄, 毛振彪
- 2250 PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制
张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓
- 2258 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用
王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄
- 2267 小鼠放射性十二指肠肠炎模型的建立
万芝清, 陈晓, 周平, 韩根成, 王济东, 夏廷毅
- 2275 丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效
蒋晓芸, 戎兰, 宋艳艳, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕

临床研究

- 2282 NSAIDs相关性溃疡再出血的预防
郭淦华, 宋丰前, 王俊, 王芳芳

文献综述

- 2289 MicroRNA与胃癌相关性的研究进展
刘皓, 范尧夫, 魏睦新
- 2294 累及下腔静脉肝癌治疗的进展
段昌虎, 邹升
- 2300 炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预
包春辉, 窦传宇, 徐斌, 刘慧荣, 吴焕淦
- 2308 难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展
张毅, 黄光明

研究快报

- 2315 水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达
张国平, 袁维堂

临床经验

- 2320 尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例
赵宗盛, 徐建军, 陈煥文, 陈立如, 温华, 朱腾高, 魏益平
- 2325 慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征
李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董菁, 李东良, 潘晨, 吕旭江, 郑智勇
- 2331 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例
姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华
- 2335 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价
李韦, 王枫, 吕宗舜, 张爱青
- 2344 人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例
余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周芳, 吕其军
- 2349 肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例
蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石
- 2355 老年高血脂性急性胰腺炎患者行血浆置换法后的临床效果分析74例
赵爱荣, 张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣
- 2359 麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较
李春日, 荆秦, 刘林, 谷忠悦
- 2364 成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例
刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波

病例报告

- 2367 食管结石2例
张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2257 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2281 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2288 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2299 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2307 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2314 2012年《世界华人消化杂志》发文情况 2324 《世界华人消化杂志》正文要求 2330 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2334 《世界华人消化杂志》栏目设置 2343 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄. 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2258
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-08-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

August 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 23

BASIC RESEARCH	<p>2241 Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells <i>Zhang JF, Dong LJ, Jiang W, Zhang H, Ding WF, Zhou GX, Mao ZB</i></p> <p>2250 Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2 <i>Zhang M, Peng L, Qiao ZB, He HT, Zhou Y, Xu Z</i></p> <p>2258 Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells <i>Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB</i></p> <p>2267 Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis <i>Wan ZQ, Chen X, Zhou P, Han GC, Wang JD, Xia TY</i></p> <p>2275 Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice <i>Jiang XY, Rong L, Song YY, Jiang YB, Zhong L, Sun DY</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>2282 Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers <i>Guo GH, Song FQ, Wang J, Wang FF</i></p>
REVIEW	<p>2289 Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer <i>Liu H, Fan YF, Wei MX</i></p> <p>2294 Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis <i>Duan CH, Tai S</i></p> <p>2300 Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment <i>Bao CH, Dou CZ, Xu B, Liu HR, Wu HG</i></p> <p>2308 <i>Clostridium difficile</i> infection in patients with inflammatory bowel disease: An update <i>Zhang Y, Huang GM</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>2315 Expression of AQP3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection <i>Zhang GP, Yuan WT</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>2320 Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases <i>Zhao ZS, Xu JJ, Chen HW, Chen LR, Wen H, Zhu TG, Wei YP</i></p> <p>2325 Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis <i>Li XJ, Qu LJ, Zheng XW, Chen LH, Dong J, Li DL, Pan C, Lv XJ, Zheng ZY</i></p> <p>2331 Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanaxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases <i>Jiang QH, Chen Y, Wang AX, Luo ZH</i></p> <p>2335 Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis <i>Li W, Wang F, Lv ZS, Zhang AQ</i></p> <p>2344 Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis <i>Yu YQ, Liu HQ, Chen TS, Zhou F, Lv QJ</i></p> <p>2349 Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors <i>Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S</i></p> <p>2355 Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases <i>Zhao AR, Zhang H, Tian XH, Liu Y, Liu WR</i></p> <p>2359 Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation <i>Li CR, Jin Q, Liu L, Gu ZY</i></p> <p>2364 Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases <i>Liu LX, Zhu FQ, Lin H, Wen P, Wen JB</i></p>

CASE REPORT	2367 Esophageal calculus: Report of two cases <i>Zhang MM, Jiang DL, Li WL, Lv M, Zhan SH</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB.</i> Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(23): 2258-2266 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date August 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

上调CDX2基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响

张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 丁伟峰, 周国雄, 毛振彪

张健锋, 董丽娟, 蒋伟, 张弘, 周国雄, 毛振彪, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

丁伟峰, 南通大学附属医院医学检验中心 江苏省南通市 226001

张健锋, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 张健锋与董丽娟对此文所作贡献均等; 此课题由张健锋、董丽娟及毛振彪设计; 研究过程由张健锋、董丽娟、蒋伟、张弘、丁伟峰及周国雄操作完成; 研究所用试剂与分析工具由张健锋与张弘提供; 数据分析由张健锋与董丽娟完成; 本论文写作由张健锋、董丽娟及毛振彪完成。

通讯作者: 毛振彪, 教授, 主任医师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科。mzb63@163.com

收稿日期: 2013-04-20 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells

Jian-Feng Zhang, Li-Juan Dong, Wei Jiang, Hong Zhang, Wei-Feng Ding, Guo-Xiong Zhou, Zhen-Biao Mao

Jian-Feng Zhang, Li-Juan Dong, Wei Jiang, Hong Zhang, Guo-Xiong Zhou, Zhen-Biao Mao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Wei-Feng Ding, Medical Laboratory Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhen-Biao Mao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. mzb63@163.com

Received: 2013-04-20 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To screen differentially expressed miRNAs in human gastric carcinoma cells with up-regulated caudal type homeobox gene 2 (CDX2) expression and to analyze their effect on biological behavior of cells.

METHODS: A recombinant eukaryotic expression plasmid carrying the CDX2 gene was constructed. SGC-7901 cells were divided into three groups: non-transfected cells, cells transfected

with PEGFP-N1 or PEGFP-N1-CDX2. The expression of GFP was observed by fluorescent microscopy. Expression of CDX2 mRNA and EGFP-CDX2 fusion protein was detected by qRT-PCR and Western blot, respectively. Cell proliferation was measured using CCK8 assay. *In vitro* cell migration and adhesion were measured by cell scratch assay, Transwell assay and cell adhesion assay. Differentially expressed miRNAs were detected using a miRNA chip, and their target genes were forecasted using Miranda, TargetScan and Mirtarget2 software.

RESULTS: The eukaryotic expression vector PEGFP-N1-CDX2 was successfully constructed. The expression levels of CDX2 mRNA and protein were higher in SGC-7901 transfected with PEGFP-N1-CDX2 than in control cells. In SGC-7901 cells transfected with PEGFP-N1-CDX2, cell proliferation, invasion and adhesion were significantly inhibited (all $P < 0.05$) compared with non-transfected cell or cells transfected with PEGFP-N1. Of 59 identified differentially expressed miRNAs between cells transfected PEGFP-N1-CDX2 and those transfected with PEGFP-N1, 25 had > 2-fold up-regulation and 34 had > 2-fold down-regulation in cells transfected with PEGFP-N1-CDX2. Many target genes of these differentially expressed miRNAs were predicted using miRNA target predication tools.

CONCLUSION: Up-regulation of CDX2 expression inhibits the growth, migration and adhesion of SGC-7901 cells. The antitumor effect of CDX2 may be associated with miRNA expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Caudal type homeobox gene 2; Gastric cancer; Cell proliferation; Cell movement; Microarray

Zhang JF, Dong LJ, Jiang W, Zhang H, Ding WF, Zhou GX, Mao ZB. Effect of up-regulation of CDX2 expression on miRNA expression profiles and biological behavior in gastric cancer SGC-7901 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2241-2249 URL: <http://www.wjgnet.com>

■背景资料

胃癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 严重危害着人类的生命健康。胃癌的发生发展是一个多阶段、多步骤、涉及多基因的病理过程, 其确切的发病机制至今尚不清楚。

■同行评议者

斯坎德尔·白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

■ 研发前沿

研究发现尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)能够抑制肠化生组织向胃癌的转变,推测他是抑制胃癌侵袭和转移的重要因素。近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关,参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程。

wjgnet.com/1009-3079/21/2241.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2241>

摘要

目的: 筛选上调尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)基因表达时人的胃癌细胞SGC-7901中差异表达的miRNA并预测其靶基因,并观察其对胃癌细胞生物学行为的影响。

方法: 提取瞬时转染48 h后空载体组(转染PEGFP-N1组)和转染组(转染PEGFP-N1-*CDX2*组)细胞的总RNA,应用miRNA芯片检测差异表达的miRNA,并通过Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件预测其靶基因,通过Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解靶基因功能。CCK8法检测细胞增殖能力,划痕试验、Transwell小室、细胞黏附实验检测各组细胞体外迁移黏附能力。

结果: PEGFP-N1-*CDX2*组较空载体组有59种差异表达的miRNA,其中25种miRNA发生2倍以上表达上调,34种miRNA发生2倍以上表达下调。通过Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析得到部分miRNA靶基因功能,这些靶基因参与了肿瘤的发生、发展、转移及预后。与对照组相比,PEGFP-N1-*CDX2*组的胃癌细胞生长、迁移和黏附能力均明显受到抑制($P < 0.05$)。

结论: 上调*CDX2*基因表达可明显抑制人胃癌细胞SGC-7901的生长,抑制其迁移黏附能力,*CDX2*基因的抗肿瘤作用可能与miRNA有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 尾型同源盒基因2; 胃肿瘤; 细胞增殖; 细胞运动; miRNA微阵列

核心提示: 近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关,参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程。上调尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)基因表达可明显抑制人胃癌细胞SGC-7901的生长,抑制其迁移黏附能力,*CDX2*基因的抗肿瘤作用可能与miRNA有关。

张健锋,董丽娟,蒋伟,张弘,丁伟峰,周国雄,毛振彪。上调*CDX2*基因表达对人胃癌SGC-7901细胞miRNA表达谱及生物学功能的影响。世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2241-2249 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2241>

0 引言

胃癌是常见的消化系恶性肿瘤之一,在我国其发病率占消化系恶性肿瘤的首位,严重危害着人类的生命健康。胃癌的发生发展是一个多阶段、多步骤、涉及多基因的病理过程,其确切的发病机制至今尚不清楚^[1,2]。

尾型同源盒基因2(caudal type homeobox gene 2, *CDX2*)是一种特异性核转录因子,在正常胃黏膜上皮中*CDX2*阴性表达,在慢性萎缩性胃炎伴肠化的胃黏膜上皮中,随着杯状细胞等一系列肠道特异性细胞的出现,*CDX2*的表达明显增强,提示*CDX2*的表达是胃黏膜癌变过程中的早期事件^[3,4]。研究发现*CDX2*能够抑制肠化生组织向胃癌的转变,因此推测他是抑制胃癌侵袭和转移的重要因素^[5-7]。近年来发现miRNA与肿瘤的发病密切相关,参与多种肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭或血管形成等过程^[8,9]。本项目通过分子克隆、实时荧光定量PCR、Western blot、CCK8法、细胞划痕试验、Transwell小室、细胞黏附实验等现代分子生物学技术、在体外环境的试验中研究上调*CDX2*基因表达对胃癌细胞生物学行为的影响,并通过基因芯片扫描技术筛选上调*CDX2*基因表达时差异表达的miRNA,预测其靶基因,分析*CDX2*基因在胃癌发生发展中的可能作用及机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌细胞株AGS、MKN-45和SGC-7901均购自中国科学院细胞库。3种人胃癌细胞株均在含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液、37℃、5%CO₂培养箱内培养。PEGFP-N1、大肠杆菌感受态细胞由南通大学外科实验室提供。TRIzol、PrimeScript RT reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq™(Perfect Real Time)(日本TaKaRa公司),引物合成(上海生工生物工程有限公司),*CDX2*抗体(Santa Cruz公司),辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(碧云天生物技术研究所),T4 DNA连接酶、限制性核酸内切酶*Xho*I、*Hind*III(Fermentas公司),纯化回收试剂盒(Omega公司),质粒抽提试剂盒(Axygen公司),TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent(Fermentas公司),CCK8(日本同仁),Matrigel胶(BD公司),结晶紫染色液(碧云天生物技术研究所),多聚甲醛(Sigma公司),Transwell小室(Costar公司),多功能酶标仪(Thermo公司),

miRCURY™ Hy3™/Hy5™ Power标记试剂盒(丹麦Exiqon公司), Axon GenePix4000B芯片扫描仪(美国Molecular Devices公司).

1.2 方法

1.2.1 CDX2低表达: 胃癌细胞株筛选: 取人胃癌细胞株AGS、SGC-7901、MKN-45各组对数生长期的细胞, TRIzol试剂抽提细胞总RNA. 按说明书分别进行逆转录合成cDNA和实时荧光定量PCR. (1)逆转录反应: 20 μ L反应体系含5 \times PrimeScript Buffer 4 μ L、1.5 μ L PrimeScript RT Enzyme Mix 1 μ L、1 μ L Oligo dT Primer(50 μ mol/L)、1 μ L Random 6 mers(100 μ mol/L)、2.7 μ L RNA模板、10.3 μ L RNase Free ddH₂O; 逆转录反应37 $^{\circ}$ C 15 min, 逆转录酶失活85 $^{\circ}$ C 5 s; (2)实时荧光定量PCR: CDX2引物由Primer 5.0软件设计CDX2 mRNA上游引物序列: 5'-CGC CGC AGA ACT TCG TCA G-3', 下游引物序列: 5'-CGT AGC CAT TCC AGT CCT CCC-3', β -actin上游引物序列: 5'-TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG-3', 下游引物序列: 5'-CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG-3'. 20 μ L反应体系含10 μ L SYBRPremix Ex Taq™(2 \times)、0.4 μ L PCR Forward Primer(10 μ mol/L)、0.4 μ L PCR Reverse Primer(10 μ mol/L)、0.4 μ L ROX Reference Dye(50 \times)、2.0 μ L DNA模板、6.8 μ L dH₂O. 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s预变性, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 共40个循环. 实验结果重复3次. 扩增完毕后分析溶解曲线, 用2^{- $\Delta\Delta$ CT}法分析数据结果.

1.2.2 PEGFP-N1-CDX2真核表达质粒的构建: 提取人胃癌细胞株AGS总RNA, 按逆转录试剂盒操作步骤得到CDX2 cDNA, 从Genbank中查找CDX2开放阅读框(942 bp), 用Primer Premier 5.0软件设计带有Xho I 和HindIII酶切位点的引物. 上游引物: 5'-TTTT CTC GAG ATG TAC GTG AGC TAC CTC CTG-3', 下游引物: 5'-TTTT AAG CTT CTG GGT GAC GGT GGG GTT TAG-3'. 以CDX2 cDNA为模板进行PCR反应扩增目的基因, 反应产物为5'端带有Xho I 位点, 3'端带有HindIII位点的目的基因片段. PCR扩增反应条件: 94 $^{\circ}$ C预变性2 min, 94 $^{\circ}$ C变性1 min, 55 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸2 min, 共25个循环, 最后72 $^{\circ}$ C延伸5 min. 取PCR反应产物在1%琼脂糖凝胶中电泳分析, 得到一条特异性区带, 切取目的条带, 将含目的片段的琼脂糖凝胶经DNA纯化回收试剂盒回收. 用Xho I 和HindIII分别双酶切

回收的CDX2片段和PEGFP-N1空载体, 酶切反应体系如下: CDX2(或PEGFP-N1)40 μ L, 10 \times buffer 10 μ L, Xho I 1 μ L, HindIII 1 μ L, 37 $^{\circ}$ C酶切消化12-16 h, 后行琼脂糖电泳后用纯化回收试剂盒回收. 接下来采用T4 DNA连接酶将经酶切的目的片段及经相同酶切的PEGFP-N1空载体连接, 将连接产物转化大肠杆菌, 在含有卡那霉素的LB培养板中培养16 h. 挑取菌落进行质粒扩增, 提取质粒. 用Xho I 和HindIII双酶切提取的重组质粒, 反应体系如下: PEGFP-N1-CDX2 40 μ L, 10 \times buffer 10 μ L, Xho I 1 μ L, HindIII 1 μ L, 37 $^{\circ}$ C酶切消化12-16 h. 取酶切产物5 μ L进行琼脂糖凝胶电泳鉴定, 将双酶切鉴定阳性的重组载体送Invitrogen公司进行测序.

1.2.3 重组质粒在SGC-7901细胞中的表达与检测: 实验分为3组: 未转染组, 转染PEGFP-N1组, 转染PEGFP-N1-CDX2组. 取对数生长期细胞重悬, 以2.5 \times 10⁵/孔接种于六孔板上, 待细胞融合达70%-90%时用阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent介导转染, 4 h后换液继续培养. 转染24 h后倒置荧光显微镜下观察增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)的表达情况. 分别取转染48 h后3组细胞应用实时荧光定量PCR检测mRNA表达, 操作同1.2.1. Western blot检测融合蛋白表达: 用细胞裂解液分别提取转染48 h后3组细胞的蛋白质, 紫外分光光度计测定蛋白质浓度, 以1:4比例与5 \times 样品缓冲液混匀, 煮沸5 min. 将样品(60 μ g/lane)在10%SDS-PAGE胶上电泳(80 V, 40 min, 后100 V, 90 min). 后通过湿转(恒流300 mA, 2 h)转印到PVDF膜上, 在含5%脱脂奶粉的TBS封闭液中封闭2 h, 按预染Marker标记的分子量剪裁转印膜, 加入CDX2抗体(稀释度均为1:100), 4 $^{\circ}$ C过夜, 加入辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(稀释度均为1:5000)室温孵育2 h, 显色、图像采集及分析处理, 以 β -actin为内参照. 实验重复3次.

1.2.4 CCK8法观察细胞增殖: 于96孔板中按3 \times 10³/孔接种转染PEGFP-N1、转染PEGFP-N1-CDX2和未转染的SGC-7901细胞, 每组设6个复孔, 分为0、24、48、72 h 4个时间段观测, 每孔加入10 μ L CCK8液, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱培养3 h, 酶标仪测定各孔A₄₅₀值. 计算细胞生长抑制率(IR)=(1-实验组A值/对照组A值) \times 100%.

1.2.5 划痕试验观察细胞迁移能力: 取对数生长

■ 相关报道

miRNA不仅可以作为肿瘤抑制因子, 也可以作为肿瘤发生因子, miRNA的表达失控是各种疾病尤其是肿瘤的重要特征.

■创新盘点

CDX2是一种特异性核转录因子,文献报道CDX2的异位表达是胃黏膜癌变过程中的早期事件,但上调CDX2基因表达对胃癌生物学行为的影响及其与miRNA的关系目前尚不清楚。

期细胞重悬,以 2.5×10^5 /孔接种于六孔板上,待细胞融合达70%-90%时用阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent介导转染48 h后,将各组细胞PBS洗2遍,用无菌200 μ L枪尖在单细胞层上划痕,PBS将脱壁的细胞洗掉,用含1%胎牛血清的RPMI 1640培养液,放入培养箱继续培养,分别于划痕后0、24 h在倒置显微镜下每孔随机取4个视野拍照,观察划痕的修复情况,划痕修复率 = [(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度] \times 100%。

1.2.6 Transwell观察细胞迁移能力:收集瞬时转染48 h后各组细胞重悬, 1×10^5 /孔接种于Transwell小室的上室,上室为无血清RPMI 1640培养液,下室为含20%胎牛血清的RPMI 1640培养液600 μ L, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养24 h,用棉签轻轻拭去上室滤膜内侧面贴壁细胞,PBS洗两遍,4%的多聚甲醛固定10 min,吸去固定液,将膜风干,每孔加入600 μ L 0.1%结晶紫染液,室温置放30 min,除去染色液,PBS洗2遍,将上室取出,显微镜下计数膜背面迁移的细胞数,计数每张膜的中央部分和周围部分随机3个视野(共15个视野),计算平均值。

1.2.7 CCK8法检测细胞黏附能力:取96孔培养板,覆以Matrigel胶8 μ g/孔,4 $^{\circ}$ C过夜,使用前37 $^{\circ}$ C孵育1 h,无血清RPMI 1640洗2次,加入瞬时转染48 h后各组细胞, 5×10^3 /孔,37 $^{\circ}$ C孵育,分别于1、2、3、4 h弃培养液,PBS洗2遍,每孔各加入100 μ L无血清RPMI 1640及10 μ L CCK8液,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱培养3 h,酶标仪测定各孔A₄₅₀值,每组细胞每个时间段各设6个复孔。

1.2.8 miRNA表达谱的检测:收集瞬时转染48 h后空载体组(转染PEGFP-N1组)及转染组(转染PEGFP-N1-CDX2组)细胞,细胞数在 1×10^6 - 1×10^7 ,PBS洗2遍,用TRIzol和miRNeasy mini kit提取总RNA,操作按说明书进行。应用miR-CURY™ Hy3™/Hy5™标记试剂盒标记miRNA。将25 μ L Hy3™标记样品和25 μ L杂交缓冲混合物首先95 $^{\circ}$ C变性2 min,冰上孵育2 min,然后应用12排杂交系统在56 $^{\circ}$ C芯片杂交16-20 h,杂交之后,取得芯片,洗涤液洗片,400 r/min,5 min离心干燥。使用Axon GenePix4000B芯片扫描仪扫描芯片的荧光强度。比较标准化后的数据值,上调或下调2倍以上即认为存在显著上调或下调趋势。

1.2.9 实时定量PCR验证miRNA:随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b,实时定量PCR验证

miRNA表达谱芯片结果,引物序列如下:U6: F: 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', R: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'; hsa-miR-374a: GSP: 5'-GGGCTTATAATACAACCTGA-3', R: 5'-TGCGTGTCTGTTGGAGTC-3'; hsa-miR-374b: GSP: 5'-GGGGATATAATACAACCTGC-3', R: 5'-CAGTGCGTGTCTGTTGGAGT-3'。其中,GSP是对应miRNA的特异引物,R是与RT引物相匹配的引物。反应条件如下:95 $^{\circ}$ C, 5 min; 40个PCR循环(95 $^{\circ}$ C, 10 s; 60 $^{\circ}$ C, 20 s; 72 $^{\circ}$ C, 20 s; 78 $^{\circ}$ C, 20 s)。各样品的目的miRNA和内参(U6)分别进行实时定量PCR反应。数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析。

1.2.10 靶基因预测及功能分析:应用Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件分别对其进行目标miRNA的预测,取同时满足3个软件预测到的基因作为靶基因。对各个miRNA的靶基因分别进行Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解其功能。

统计学处理 所有数据均用统计软件SPSS13.0处理,计量资料以mean \pm SD表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。芯片图像扫描后导入GenePix Pro 6.0软件,重复的miRNA和miRNA的强度 ≥ 50 的所有样品使用中位数进行数据标准化处理。标准化后差异表达的miRNA鉴定通过的倍数变化进行分析和使用MEV软件进行层次聚类分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 重组质粒CDX2在人胃癌细胞SGC-7901的表达 实时荧光定量PCR和Western blot检测结果提示,转染48 h后转染PEGFP-N1-CDX2组细胞CDX2 mRNA和蛋白含量均高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)(图1, 2)。

2.2 上调CDX2基因对胃癌细胞生物学行为的影响

2.2.1 细胞增殖实验:瞬时转染48、72 h后,转染PEGFP-N1-CDX2组的细胞与未转染组、转染PEGFP-N1组相比出现明显生长抑制($P < 0.05$,表1)。

2.2.2 细胞迁移能力:瞬时转染48 h后的各组细胞,比较划痕后24 h划痕宽度,结果提示,转染PEGFP-N1-CDX2组(划痕修复率为3.64% \pm 2.3%)的细胞与未转染组(划痕修复率为57.60% \pm 8.8%)、转染PEGFP-N1组(划痕修复率为51.52%

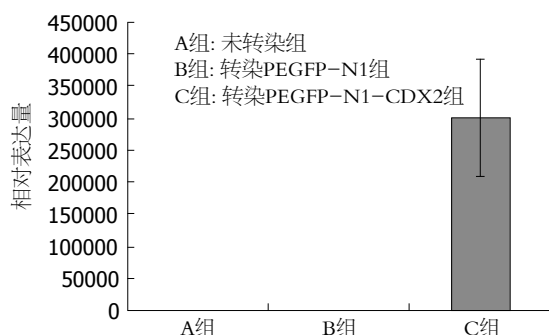


图1 实时荧光定量PCR检测3组CDX2 mRNA的表达。CDX2: 上调尾型同源盒基因2。A组: 未转染组; B组: 转染PEGFP-N1组; C组: 转染PEGFP-N1-CDX2组。

±3.09%)相比迁移能力受到抑制($P<0.05$, 图3)。

2.2.3 细胞侵袭能力: 瞬时转染48 h后的各组细胞, 通过计数穿过Transwell小孔细胞数目比较侵袭运动能力, 转染PEGFP-N1-CDX2组(22.33 ± 4.77)的细胞与未转染组(47.93 ± 6.29)、转染PEGFP-N1组(45.33 ± 4.59)相比侵袭能力受到抑制($P<0.05$)(图4)。

2.2.4 细胞黏附能力: 瞬时转染48 h后的各组细胞, 根据CCK8法检测的A值可见在覆盖Matrigel胶的96孔板培养1、2 h时, 转染PEGFP-N1-CDX2组(0.621 ± 0.151 和 0.874 ± 0.127)的细胞黏附能力低于未转染组(0.932 ± 0.121 和 1.369 ± 0.120)和转染PEGFP-N1组(0.915 ± 0.119 和 1.277 ± 0.172)($P<0.05$, 图5)。

2.3 miRNA芯片实验结果 与空载体组细胞比较, 转染组细胞有59种miRNA的表达出现显著改变, 其中25种表达上调2倍以上, 包括miR-150, miR-3170, miR-374a, miR-4292, miR-BHRF1-1, miR-625, miR-4285, miR-138-1, miR-19a, miR-32, miR-498, miR-877, miRPlus-A1086, miR-361-3p, miR-K12-5, miRPlus-I874, miR-29c, miR-1915, miR-525-5p, miR-20a, miR-30bm, miR-374b, miR-106a, miR-17, miR-3126-3p; 34种表达下调2倍以上, 包括let-7b, miR-3178, miR-423-5p, miR-125b, miR-21, miR-361-5p, miR-320c, miR-181a, miR-130a, miR-320b, let-7g, miR-196a, miR-92a, miR-BART19-3p, miR-4301, miR-125a-5p, miR-513a-5p, miRPlus-A1087, miR-33b, miR-1973, miR-205, miR-299-3p, miRPlus-A1072, miR-186, miR-25, miR-106b, miR-K12-6-3p, miR-320a, let-7i, miRPlus-G1246-3p, miR-BHRF1-2, miR-100, miRPlus-A1015, miR-378。随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b进行实时定量PCR验证, 以U6为

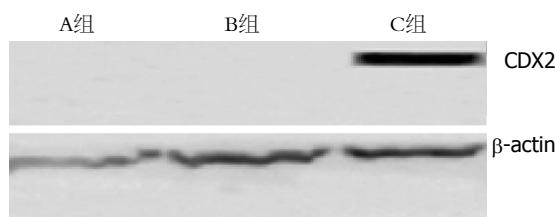


图2 Western免疫印迹检测3组CDX2 mRNA的表达。A组: 未转染组, B组: 转染PEGFP-N1组, C组: 转染PEGFP-N1-CDX2组。CDX2: 上调尾型同源盒基因2。

内参, 结果与芯片检测结果一致(图6)。

2.4 miRNA靶基因预测及功能分析 大多数miRNA基因均具有多个可能的靶位点, 其功能涉及细胞增殖、细胞周期调控、肿瘤浸润转移、肿瘤免疫、细胞信号转导、癌基因、抑癌基因等生物特性密切相关的基因, 参与肿瘤发生、发展、转移的各个方面(表2)。

3 讨论

近年来, 大量研究已证实胃癌的发生、发展和预后是多基因改变的结果, 研究胃癌相关基因及其蛋白分子不仅对于理解胃癌的发病机制十分重要, 而且对于发现在诊断和评价预后中有临床意义的分子标志物也同样重要。

CDX2基因及相关蛋白最早由Mlodzik于果蝇中分离成功, 与parahox家族呈高度同源性^[10,11]。研究表明, 在人体正常上皮细胞中, CDX2可表达于内胚层来源的肠道上皮及胰腺导管和腺泡上皮, 但在食管和正常胃黏膜上皮中不表达^[12]。Mallo等^[11]研究发现CDX2 mRNA在85%的结直肠癌中表现出下调, 从而推测CDX2确为一种肿瘤抑制基因。尽管确切机制尚不清楚, 但CDX2与其他肿瘤抑制因子如APC和E-Cadherin及细胞凋亡蛋白Bcl-2的相互作用进一步支持了这一观点^[12-16]。Song等^[17]认为CDX2基因突变将使得肠化生中的CDX2表达消失从而促使了肠型胃癌的发生。由此可见, CDX2基因在胃癌的发生发展中起着重要的作用。

基因转染是指采用一定的方法和途径将DNA、RNA等外源性分子导入特定的细胞, 并表达目的基因, 产生特定功能的蛋白质的过程^[18]。一些传统的转染技术, 如DEAE右旋糖苷法, 磷酸钙法、电穿孔法、脂质体法各有利弊, 阳离子聚合物转染试剂可以用于多种细胞系的转染, 对细胞毒性小, 转染效率高, 操作简单, 转染时不需要除血清及抗生素, 重复性好, 转染安全可

■应用要点

上调CDX2基因表达后人胃癌细胞SGC-7901有59种差异表达的miRNA, 其中25种miRNA上调和34种miRNA下调, 这些靶基因参与了肿瘤的发生、发展、转移及预后, 为我们进一步研究其与胃癌的发生、发展的关系奠定基础。

■同行评价

本文研究内容充实,应用方法较多,得出的结果在胃癌研究具有重要意义。

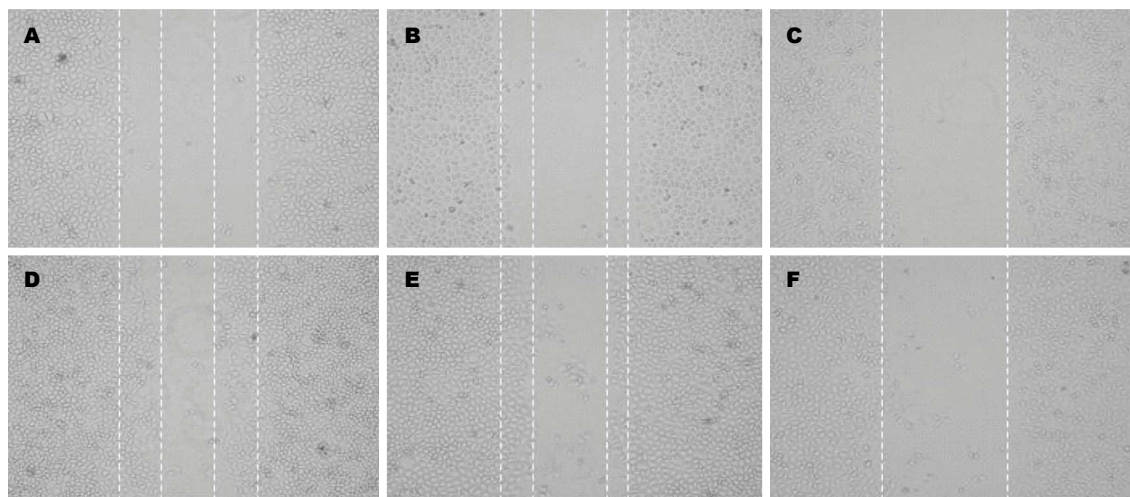


图3 各组细胞迁移能力比较. A-C: 0 h; D-F: 24 h. A, D: 未转染组; B, E: 转染PEGFP-N1组; C, F: 转染PEGFP-N1-CDX2组. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

表1 CDX2对SGC-7901细胞增殖的影响 (mean ± SD)

分组	转染0 h	转染24 h		转染48 h		转染72 h	
	A值	A值	IR(%)	A值	IR(%)	A值	IR(%)
A组	0.709 ± 0.070	1.004 ± 0.158	0	1.349 ± 0.135 ^a	0	1.571 ± 0.118 ^a	0
B组	0.715 ± 0.098	0.933 ± 0.167	7.46 ± 2.9	1.230 ± 0.164 ^a	9.17 ± 4.4	1.406 ± 0.157 ^a	10.73 ± 4.7
C组	0.722 ± 0.100	0.862 ± 0.146	14.3 ± 1.4	0.924 ± 0.10	31.67 ± 1.8	1.003 ± 0.10	36.24 ± 2.1

^a $P < 0.05$ vs 转染PEGFP-N1-CDX2组. 抑制率(IR) = $(1 - \text{实验组A值} / \text{对照组A值}) \times 100\%$, A: 未转染组; B: 转染PEGFP-N1组; C: 转染PEGFP-N1-CDX2组. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

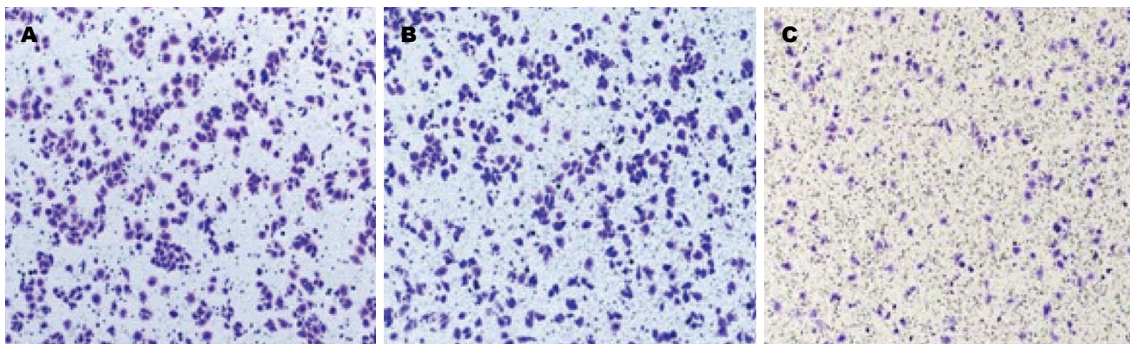


图4 光学显微镜观察各组细胞迁移能力(×100). A: 未转染组; B: 转染PEGFP-N1组; C: 转染PEGFP-N1-CDX2组.

靠,日益受到人们的重视,本实验我们选用Fermentas公司研发的阳离子聚合物TurboFect™ *in vitro* Transfection Reagent转染试剂来介导基因转染.真核表达载体PEGFP-N1是较常用的真核细胞表达外源蛋白的质粒,他不仅具有多克隆位点,便于目的基因插入,而且能在增殖的细胞中稳定表达^[19-23].本研究通过实时荧光定量PCR法筛选出低表达CDX2的胃癌细胞SGC-7901,将成功构建的PEGFP-N1-CDX2真核表达载体成

功转染胃癌细胞SGC-7901,显著上调了CDX2 mRNA和蛋白的表达.实验在此基础上设未转染组、转染PEGFP-N1组、转染PEGFP-N1-CDX2组.分别观察研究转染前后肿瘤细胞增殖能力、细胞迁移、黏附能力,以探讨CDX2重组载体对胃癌细胞SGC-7901生物学行为的影响,从而了解CDX2基因在胃癌中发生发展中的作用.

无限增殖是肿瘤细胞的基本特征,也是肿瘤转移、侵袭的基础和前提,随着细胞的增殖导致

表 2 部分miRNA靶基因及其功能预测

名称	CDX2/空载	靶基因	功能
hsa-miR-32	14.42	<i>Bim, BTG2</i> 等	与人类髓系白血病和前列腺癌发生和预后有关
hsa-miR-374a	9.95	<i>PBEF, CDH17, K-ras</i> 等	与胃癌的转移及预后有关
hsa-miR-374b	2.32	<i>CDH17</i> 等	与胃癌的转移及预后有关
hsa-miR-150	2.62	<i>c-Myb, NOTCH3, EGR2, P2X7</i> 等	通过靶向c-Myb抑制肝癌干细胞; 靶向NOTCH3抑制T细胞的分化和生存; 靶向抑癌基因EGR2促进胃癌细胞增生和生长; 靶向影响凋亡调控细胞生长的P2X7等
hsa-miR-106a	3.24	<i>IL-10</i> 等	星形细胞瘤预后指标; 调节IL-10表达
hsa-miR-320c	0.44	<i>MUC2</i> 等	与肿瘤侵袭转移有关
hsa-miR-320b	0.30	<i>MUC2, TFF3</i> 等	与肿瘤侵袭转移有关
hsa-miR-196a	0.44	<i>CDH17</i> 等	与胃癌的发生、发展、转移及预后有关
hsa-miR-92a	0.43	<i>GATA-2</i> 等	GATA-2可能是白血病细胞的增殖过程中所需要的转录因子之一
hsa-miR-320a	0.42	<i>BMP2, Osteocalcin, Runx2, MUC2, TFF3</i> 等	与胃癌的发生、发展、转移及预后有关
hsa-let-7i	0.46	<i>TRIM41, SOX13, SLC25A4, SEMA4F, RPUSD2, BTBD3, PLEKHG6, CCND2</i> 等	与肠癌转移及预后有关

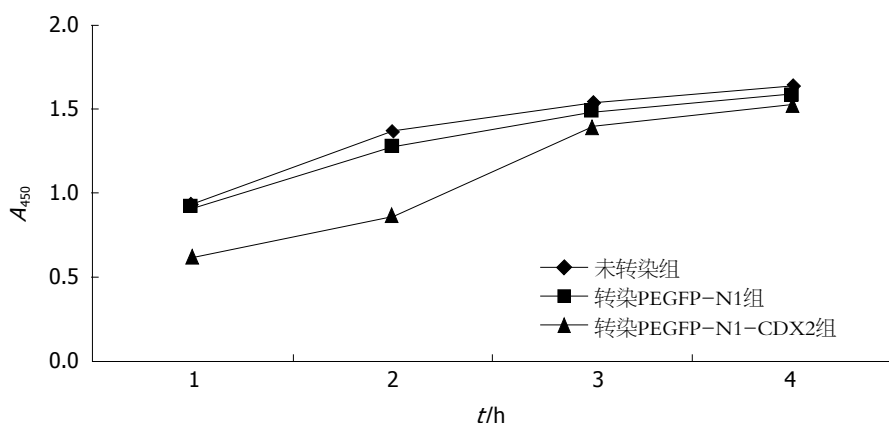


图 5 各组细胞黏附能力比较. CDX2: 上调尾型同源盒基因2.

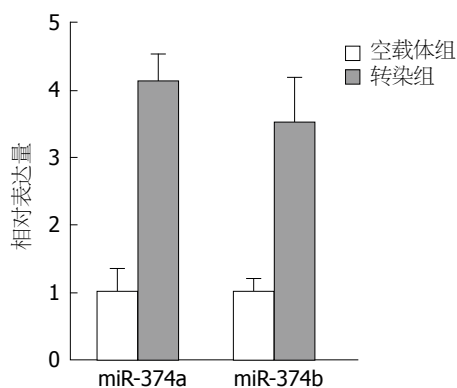


图 6 Real-time RCR验证图.

肿瘤组织内部压力增高, 这种扩张性的压力有利于癌细胞向压力低的方向侵袭和转移^[24,25]. 通过实验我们发现: 在转染48、72 h后, 转染PEGFP-

N1-CDX2组细胞增殖抑制率明显高于未转染组、转染PEGFP-N1组($P<0.05$), 未转染组和转染PEGFP-N1组细胞增殖抑制率相比无显著性差异($P>0.05$). 推测CDX2具有抑制胃癌细胞SGC-7901增殖的作用. 运动性是评价肿瘤细胞体外转移潜能之一^[26,27]. 本研究应用体外划痕试验测定3组细胞迁移能力, 结果显示转染PEGFP-N1-CDX2组细胞迁移能力与未转染组及转染PEGFP-N1组细胞相比受到明显抑制($P<0.05$). Transwell小室培养是目前常用的体外研究肿瘤细胞迁移行为的经典而快速的方法^[28], 通过计数穿过Transwell小孔细胞数目比较迁移运动能力, 结果显示转染PEGFP-N1-CDX2组细胞穿过小孔数目低于未转染组及转染PEGFP-N1组($P<0.05$). 肿瘤细胞黏附其他肿瘤细胞、宿主

细胞或细胞外基质成分的能力,在原发肿瘤的侵袭、穿入和穿出血管以及在靶器官的侵袭中均有重要意义。将Matrigel铺在96孔板上,通过CCK8法检测细胞与细胞外基质的黏附能力。实验结果证实:将瞬时转染48 h后的各组细胞重悬于覆盖Matrigel胶的96孔板培养1、2、3、4 h,在培养1、2 h时,CCK8检测显示转染PEGFP-N1-CDX2组的细胞黏附能力低于未转染组、转染PEGFP-N1($P<0.05$),推测CDX2抑制胃癌细胞SGC-7901与细胞外基质的黏附,而在培养3、4 h时3组细胞黏附能力无明显区别($P>0.05$),可能是因为此时3组细胞基本全部黏附在基底膜上的原因。

到目前为止,已报道有几千种miRNA存在于动物、植物、真菌等多细胞真核生物中,进化上高度保守。已有许多研究表明不同的miRNA在不同肿瘤中增高或者降低,同一种肿瘤的不同发展阶段,miRNA的表达水平也不相同,证明miRNA不仅可以作为肿瘤抑制因子,也可以作为肿瘤发生因子^[29,30]。miRNA的表达失控是各种疾病尤其是肿瘤的重要特征。本实验我们通过miRNA芯片技术筛选出上调CDX2基因表达时胃癌细胞SGC-7901差异表达的miRNA,结果发现转染组(转染PEGFP-N1-CDX2组)有59种miRNA的表达出现显著改变,其中25种表达上调2倍以上,34种表达下调2倍以上($P<0.05$)。miRNA芯片尽管融合了各种改良技术,仍难以避免假阳性,因此检测结果仍需要通过实时定量PCR进行验证^[31]。我们从筛选出的差异表达的miRNA中随机选取hsa-miR-374a和hsa-miR-374b,以U6为内参,进行实时定量PCR验证,结果显示与芯片结果变化趋势一致,从而认为本次芯片实验结果是可信的。miRNA检测技术发现差异表达的miRNA分子后,可以通过靶基因预测的生物信息学方法对其靶基因进行预测,进行电脑上的功能分析。我们将得到的差异表达的miRNA应用Miranda、TargetScan、Mirtarget2软件分别预测其靶基因,取同时满足3个软件预测到的基因作为靶基因。对各个miRNA的靶基因分别进行Gene Ontology(GO)和KEGG pathway分析了解其功能。大多数miRNA均具有多个可能的靶位点,其功能涉及细胞增殖、细胞周期调控、肿瘤浸润转移、肿瘤免疫、细胞信号转导、癌基因、抑癌基因等生物特性密切相关的基因,为我们进一步研究其与胃癌的发生、发展的关系奠定基础。

4 参考文献

- Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. *Lancet* 2009; 374: 477-490 [PMID: 19625077 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60617-6]
- Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 17-20 [PMID: 16440411]
- 毛振彪, 许钟, 张健锋, 朱慧君, 章建国, 潘正平. 鸟苷酸环化酶C和尾型同源盒转录因子2在胃癌及癌前病变组织中的表达及意义. *中华消化杂志* 2008; 28: 673-677
- Saad RS, Ghorab Z, Khalifa MA, Xu M. CDX2 as a marker for intestinal differentiation: Its utility and limitations. *World J Gastrointest Surg* 2011; 3: 159-166 [PMID: 22180832 DOI: 10.4240/wjgs.v3.i11.159]
- 许海泉, 王邦茂, 章明放, 阎雪燕. Cdx2和PTEN在胃粘膜肠上皮化生及肠型胃癌组织中的表达. *天津医科大学学报* 2004; 10: 510-513
- 李姝, 王邦茂, 张洁, 方维丽. Cdx2与MUC2在反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌中的表达. *中华消化内镜杂志* 2006; 23: 355-357
- Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Tamada K, Kita H, Osawa H, Tomiyama T, Sato Y, Yamamoto H, Isoda N, Yoshida T, Ido K, Sugano K. Development of gastric carcinoma from intestinal metaplasia in Cdx2-transgenic mice. *Cancer Res* 2004; 64: 7740-7747 [PMID: 15520178 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1617]
- He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-833 [PMID: 15944707 DOI: 10.1038/nature03552]
- Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302: 1-12 [PMID: 16989803 DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.08.028]
- Beck F, Chawengsaksophak K, Luckett J, Giblett S, Tucci J, Brown J, Poulsom R, Jeffery R, Wright NA. A study of regional gut endoderm potency by analysis of Cdx2 null mutant chimaeric mice. *Dev Biol* 2003; 255: 399-406 [PMID: 12648499 DOI: 10.1016/S0012-1606(02)00096-9]
- Mallo GV, Rechreche H, Frigerio JM, Rocha D, Zweibaum A, Lacasa M, Jordan BR, Dusetti NJ, Dagorn JC, Iovanna JL. Molecular cloning, sequencing and expression of the mRNA encoding human Cdx1 and Cdx2 homeobox. Down-regulation of Cdx1 and Cdx2 mRNA expression during colorectal carcinogenesis. *Int J Cancer* 1997; 74: 35-44 [PMID: 9036867 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19970220)74:1<35::AID-IJC7>3.0.CO;2-1]
- Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, Gown AM. CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 303-310 [PMID: 12604886]
- Mallo GV, Soubeyran P, Lissitzky JC, André F, Farnarier C, Marvaldi J, Dagorn JC, Iovanna JL. Expression of the Cdx1 and Cdx2 homeotic genes leads to reduced malignancy in colon cancer-derived cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 14030-14036 [PMID: 9593754 DOI: 10.1074/jbc.273.22.14030]
- Freund JN, Domon-Dell C, Keding M, Duluc I. The Cdx-1 and Cdx-2 homeobox genes in the intestine. *Biochem Cell Biol* 1998; 76: 957-969 [PMID: 9593754 DOI: 10.1074/jbc.273.22.14030]

- 10392709]
- 15 da Costa LT, He TC, Yu J, Sparks AB, Morin PJ, Polyak K, Laken S, Vogelstein B, Kinzler KW. CDX2 is mutated in a colorectal cancer with normal APC/ beta-catenin signaling. *Oncogene* 1999; 18: 5010-5014 [PMID: 10490837]
- 16 Hinoi T, Lucas PC, Kuick R, Hanash S, Cho KR, Fearon ER. CDX2 regulates liver intestine-cadherin expression in normal and malignant colon epithelium and intestinal metaplasia. *Gastroenterology* 2002; 123: 1565-1577 [PMID: 12404231]
- 17 Song JH, Kim CJ, Cho YG, Chae JS, Cao Z, Nam SW, Lee JY, Park WS. Genetic alterations of the Cdx2 gene in gastric cancer. *APMIS* 2008; 116: 74-80 [PMID: 18254783 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2008.00881.x]
- 18 Yoshida D, Watanabe K, Noha M, Takahashi H, Teramoto A, Sugisaki Y. Anti-invasive effect of an anti-matrix metalloproteinase agent in a murine brain slice model using the serial monitoring of green fluorescent protein-labeled glioma cells. *Neurosurgery* 2003; 52: 187-196; discussion 196-197 [PMID: 12493117]
- 19 Cormack BP, Valdivia RH, Falkow S. FACS-optimized mutants of the green fluorescent protein (GFP). *Gene* 1996; 173: 33-38 [PMID: 8707053 DOI: 0378-1119(95)00685-0]
- 20 Tao W, Evans BG, Yao J, Cooper S, Cornetta K, Ballas CB, Hangoc G, Broxmeyer HE. Enhanced green fluorescent protein is a nearly ideal long-term expression tracer for hematopoietic stem cells, whereas DsRed-express fluorescent protein is not. *Stem Cells* 2007; 25: 670-678 [PMID: 17138958 DOI: 10.1634/stemcells.2006-0553]
- 21 Ueta Y, Fujihara H, Serino R, Dayanithi G, Ozawa H, Matsuda K, Kawata M, Yamada J, Ueno S, Fukuda A, Murphy D. Transgenic expression of enhanced green fluorescent protein enables direct visualization for physiological studies of vasopressin neurons and isolated nerve terminals of the rat. *Endocrinology* 2005; 146: 406-413 [PMID: 15375027 DOI: 10.1210/en.2004-0830]
- 22 Vitriol EA, Uetrecht AC, Shen F, Jacobson K, Bear JE. Enhanced EGFP-chromophore-assisted laser inactivation using deficient cells rescued with functional EGFP-fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 6702-6707 [PMID: 17420475 DOI: 10.1073/pnas.0701801104]
- 23 Tamberg N, Lulla V, Fragkoudis R, Lulla A, Fazakerley JK, Merits A. Insertion of EGFP into the replicase gene of Semliki Forest virus results in a novel, genetically stable marker virus. *J Gen Virol* 2007; 88: 1225-1230 [PMID: 17374766 DOI: 10.1099/vir.0.82436-0]
- 24 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931]
- 25 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- 26 Klein CA. Cancer. The metastasis cascade. *Science* 2008; 321: 1785-1787 [PMID: 18818347 DOI: 10.1126/science.1164853]
- 27 Eccles SA, Welch DR. Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* 2007; 369: 1742-1757 [PMID: 17512859 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60781-8]
- 28 Ponath PD, Wang J, Heath H. Transwell chemotaxis. *Methods Mol Biol* 2000; 138: 113-120 [PMID: 10840748 DOI: 10.1385/1-59259-058-6]
- 29 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279 DOI: 10.1038/nrc1840]
- 30 Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603023]
- 31 Castoldi M, Schmidt S, Benes V, Noerholm M, Kulozik AE, Hentze MW, Muckenthaler MU. A sensitive array for microRNA expression profiling (miChip) based on locked nucleic acids (LNA). *RNA* 2006; 12: 913-920 [PMID: 16540696 DOI: 10.1261/rna.2332406]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制

张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓

■背景资料

原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 侵袭性强、易复发、预后差, 深入研究其发生发展的机制有助于寻找新的有效的治疗靶点。PI3K/Akt通路是十分重要的“凋亡抑制”通路, 通过调控下游多种靶蛋白发挥效应, 但在肝癌细胞中该通路的具体作用机制尚未明确。

张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓, 河北医科大学第四医院肝胆外科 河北省石家庄市 050011

张萌, 博士, 副主任医师, 主要从事肝胆肿瘤的基础与临床研究。河北省普通高校强势特色学科建设基金资助项目, No. 2005(52)

河北省卫生厅基金资助项目, No. 06142

作者贡献分布: 本课题设计与审阅由彭利完成; 文章写作与修改由张萌与何宏涛完成; 统计分析由张萌与徐卓完成; 主要实验与资料整理由周烨与乔治斌完成。

通讯作者: 彭利, 教授, 主任医师, 050011, 河北省石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院肝胆外科。pengli72@sina.com
电话: 0311-86095340

收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Meng Zhang, Li Peng, Zhi-Bin Qiao, Hong-Tao He, Ye Zhou, Zhuo Xu

Meng Zhang, Li Peng, Zhi-Bin Qiao, Hong-Tao He, Ye Zhou, Zhuo Xu, Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Supported by: the Foundation of Strong Characteristic Subjects of Hebei University, No. 2005(52); the Foundation of Health Department of Hebei Province, No. 06142

Correspondence to: Li Peng, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, 12 Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. pengli72@sina.com

Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of the PI3K/Akt signaling pathway inhibitor wortmannin on cell proliferation, apoptosis and expression of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2.

METHODS: After treatment with different concentrations of wortmannin (0, 10, 50, 100, 200 nmol/L) for different durations (3, 10, 24 h), proliferation of HepG2 cells was analyzed by

MTT assay, cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry, expression of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} proteins was detected by Western blot, and the mRNA expression of Skp2 and P27^{kip1} was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction.

RESULTS: Wortmannin inhibited the proliferation of HepG2 cells in a dose- and time-dependent manner. The apoptosis rates of HepG2 cells significantly increased from 8.46% ± 1.17% to 28.03% ± 2.67% after treatment with wortmannin ($P < 0.05$). Wortmannin induced an increase in the percentage of cells in G₀/G₁ phase and a decrease in the percentage of cells in S phase cells (both $P < 0.05$). After treatment with wortmannin, the expression of pAkt and Skp2 proteins was down-regulated, while that of P27^{kip1} protein was up-regulated (all $P < 0.05$). In addition, Skp2 mRNA expression in HepG2 cells was significantly down-regulated ($P < 0.05$), although the expression of P27^{kip1} mRNA was not changed.

CONCLUSION: Wortmannin inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 possibly by regulating the expression of Skp2 and P27^{kip1}.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B signaling pathway; Wortmannin; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; pAkt; S-phase kinase associated protein 2; P27^{kip1}

Zhang M, Peng L, Qiao ZB, He HT, Zhou Y, Xu Z. Inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway inhibits cell proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2250-2257 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2250.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2250>

摘要

目的: 研究磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶

■同行评议者

李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路抑制剂渥曼青霉素对人肝癌HepG2细胞增殖、细胞周期与凋亡的影响以及相关基因*pAkt*、*Skp2*及*P27^{kip1}*表达的变化。

方法: 将不同浓度的渥曼青霉素(0、10、50、100、200 nmol/L)分别作用于对数生长期的人肝癌HepG2细胞3、10、24 h, MTT法测定细胞增殖抑制率, 流式细胞术检测细胞凋亡率及细胞周期的变化, Western blot检测*pAkt*、*Skp2*及*P27^{kip1}*蛋白表达变化, RT-PCR检测*Skp2*及*P27^{kip1}* mRNA表达变化。

结果: 渥曼青霉素可明显抑制HepG2细胞的增殖, 在一定范围内具有时间和浓度依赖性。渥曼青霉素可导致G₀/G₁期HepG2细胞比例明显升高, S期细胞比例明显降低($P<0.05$)。随着渥曼青霉素浓度的增加及作用时间的延长, HepG2细胞凋亡率逐渐升高($8.46\% \pm 1.17\%$ 至 $28.03\% \pm 2.67\%$)($P<0.05$)。Western blot结果显示渥曼青霉素可下调*pAkt*和*Skp2*蛋白的表达, 上调*P27^{kip1}*蛋白表达($P<0.05$)。RT-PCR结果显示渥曼青霉素可明显下调*Skp2* mRNA的表达, 而*P27^{kip1}* mRNA表达无明显变化。

结论: PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 引发G₀/G₁期阻滞并诱导其凋亡, 其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与*Skp2*及*P27^{kip1}*调控有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B; 渥曼青霉素; 肝细胞癌; 凋亡; *pAkt*; S期激酶相关蛋白2; *P27^{kip1}*

核心提示: 阻断磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 引发细胞周期阻滞并诱导凋亡, 其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与*Skp2*及*P27^{kip1}*的调控有关。这一研究结果为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝细胞癌临床辅助治疗提供了一定的实验基础及理论依据。

张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周烨, 徐卓. PI3K/Akt信号通路抑制剂对人肝癌HepG2细胞的体外抑制作用及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2250-2257 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2250.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2250>

0 引言

原发性肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 其中90%为肝细胞癌, 发病率居全世界恶性肿瘤的第5位, 每年死亡病例约69.6万, 居肿瘤相关死因的第3位^[1]。我国是肝癌发病率最高的国家, 每年新发病例数占全球总数的55%, 在我国肿瘤相关死因中仅次于肺癌, 位居第2位^[2]。肝细胞癌侵袭性强、易复发、预后差, 是我国恶性肿瘤防治研究的重点。目前研究发现, 多条信号通路参与肿瘤的恶性生物学行为^[3], 其中磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路在调控肿瘤细胞的增殖、分化、存活和迁移等方面发挥功能, 是十分重要的凋亡抑制通路, 以这条通路为靶点的肿瘤治疗策略正在广泛研究中^[4,5]。*P27^{kip1}*蛋白为细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂Cip/Kip蛋白家族的重要成员, 研究发现几乎所有人类恶性肿瘤中均存在*P27^{kip1}*蛋白的表达下调或缺失, 是公认的抑癌蛋白^[6]。而S期激酶相关蛋白2(S-phase kinase associated protein 2, *Skp2*)参与*P27^{kip1}*的降解, 使细胞周期调节失控, 最终导致癌变的发生^[7]。我们的前期研究发现, 在肝细胞癌组织中也存在PI3K/Akt通路的异常激活, 同时伴有*Skp2*及*P27^{kip1}*蛋白的表达失调, 并且与患者的预后密切相关^[8]。目前有关肝细胞癌中PI3K/Akt通路与*Skp2*及*P27^{kip1}*关系的报道较少。本实验选取体外培养的人肝癌HepG2细胞为研究对象, 加入PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素, 观察HepG2增殖、细胞周期与凋亡的变化, 检测*pAkt*、*Skp2*和*P27^{kip1}*蛋白及mRNA的表达, 进一步研究PI3K/Akt信号通路的作用机制, 为临床治疗肝细胞癌提供新的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系HepG2由河北医科大学第四医院科研中心提供。渥曼青霉素购自美国Sigma公司, 分子量428.43, 纯度>99%, 用二甲基亚砜(DMSO)配置成储存液, 过滤除菌后分装, 置-20℃冰箱保存、备用。RT-PCR试剂盒购自北京华美公司, *GAPDH*、*Skp2*和*P27^{kip1}*基因引物由上海生工生物工程公司合成。鼠抗人β-actin和*P27^{kip1}*单克隆抗体及兔抗人*Skp2*多克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司, 兔抗人*pAkt*单克隆抗体购自美国Epitomics公司。四甲基偶氮唑蓝[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-

■研究前沿

PI3K/Akt通路在肿瘤细胞增殖、凋亡和放、化疗抵抗方面起重要作用, 目前以这条信号通路为靶点的肿瘤治疗策略正在广泛的研究中, 有关*Skp2*及*P27^{kip1}*在该通路中发挥的作用报道较少。

■ 相关报道

Ecker等研究表明PI3K/Akt信号通路可通过控制转录因子*E2F1*与*Skp2*启动子的结合调节*Skp2*基因的表达,还可以直接磷酸化激活*Skp2*调控其稳定性,从而减少*Skp2*的降解,因此认为*Skp2*为PI3K/Akt信号通路的下游底物。

zolium bromide, MTT]及PI染液购自美国Sigma公司。细胞蛋白提取试剂盒、Bradford法蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝有限公司。DAB试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。RPMI 1640培养基和TRIzol总RNA提取试剂购自美国Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 用含有100 U/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素, 不含胎牛血清的RPMI 1640培养基在5%CO₂、37 °C恒温培养箱中培养人肝癌细胞系HepG2。每2-3 d传代1次, 取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 MTT法检测细胞增殖: 将对数生长期的HepG2细胞按 1×10^4 个/孔接种于96孔培养板, 孵育24 h待细胞贴壁后加入以DMSO溶解的渥曼青霉素(终浓度分别为0、10、50、100、200 nmol/L), 每组设6个复孔, 设阴性对照(只加等量DMSO)及空白对照(只加培养液)。分别培养3、10、24 h后, 每孔加入MTT 20 μ L (5 mg/mL), 继续孵育4 h, 弃上清液, 每孔加入100 μ L DMSO, 振荡10 min待结晶充分溶解后在酶标仪490 nm波长处测定每孔吸光度(A)值。计算细胞增殖抑制率, 抑制率 = (对照组A值-试验组A值)/(对照组A值-空白组A值) \times 100%。实验重复3次。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期的变化: 取对数生长期的HepG2细胞(5×10^5 个/培养瓶), 经渥曼青霉素(终浓度分别为0、50、100、200 nmol/L)作用10 h后收获细胞。另取细胞经终浓度为100 nmol/L的渥曼青霉素分别作用3、10、24 h后收获细胞。用预冷700 mL/L乙醇固定12 h。离心弃固定液, PBS重悬5 min后300目筛网过滤, 加入PI染液, 4 °C避光染色30 min, 采用美国Beckman公司的Epics-XL II型流式细胞仪, 分析细胞周期和细胞凋亡的变化。实验重复3次。

1.2.4 Western blot检测蛋白表达变化: 按照方法1.2.3进行细胞培养和分组, 收集细胞, 按照细胞蛋白质提取试剂盒的步骤提取细胞总蛋白。Bradford比色法检测蛋白浓度。取50 μ g样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将凝胶中分离的蛋白转印PVDF膜。5%脱脂牛奶封闭2 h后, 分别加入1:200稀释的鼠抗人 β -actin单克隆抗体、兔抗人*Skp2*多克隆抗体、鼠抗人P27^{kip1}单克隆抗体及1:150稀释的兔抗人pAkt单克隆抗体, 4 °C孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗溶液, 37 °C孵育2 h, 洗膜后DAB显色, β -actin为内参照。条带进行光密度值分析, 将目标条带与

β -actin条带的灰度值之比作为其蛋白表达水平的参数。实验重复3次。

1.2.5 RT-PCR检测mRNA表达变化: 按照方法1.2.3进行细胞培养和分组, 收集细胞, 提取各组细胞的总RNA, 进行RNA完整性及纯度的鉴定。使用一步法反转录试剂盒, 合成cDNA。以GAPDH为内参照, GAPDH上游引物序列: 5'-GGAAGGTGAAGGTCGGAGT-3', 下游引物序列: 5'-CCTGGAAGATGGTGATGGG-3', 扩增产物大小为250 bp。Skp2上游引物序列: 5'-GACAGTGAGAACATCCCCC-3', 下游引物序列: 5'-GAGAGACAGTATGCCGTGGA-3', 扩增产物大小为476 bp。P27^{kip1}上游引物序列: 5'-CCGACGATTCTTCTACTC-3', 下游引物序列: 5'-CTGATAACAAGGAAACATA-3', 扩增产物大小为165 bp。扩增条件: 95 °C预变性5 min, 94 °C变性30 s, 相应退火温度(55 °C-62 °C)30 s, 72 °C延伸30 s, 30个循环; 72 °C延伸7 min。产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳, 紫外凝胶成像仪拍照。条带进行光密度值分析, 将目标条带与GAPDH条带的光密度值之比作为其mRNA表达水平的参数。实验重复3次。

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0统计软件进行分析。计量资料以mean \pm SD表示, 多组间均数比较采用 χ^2 分析, 其中两两比较用S-N-K检验。两组均数比较用t检验, $P < 0.05$ 时被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 渥曼青霉素对HepG2细胞增殖的抑制作用 MTT结果显示, 渥曼青霉素能够明显抑制HepG2细胞的增殖, 且具有一定的时间及浓度依赖性(图1)。50 nmol/L渥曼青霉素作用3 h后, HepG2细胞的抑制率为(20.13% \pm 2.52%), 而200 nmol/L渥曼青霉素作用24 h后抑制率可达到(74.93% \pm 3.25%, $P < 0.05$, 表1)。

2.2 渥曼青霉素对HepG2细胞凋亡及细胞周期的影响 流式细胞检测结果显示, 渥曼青霉素可诱导HepG2细胞发生凋亡, 随着药物浓度增加及作用时间延长, HepG2细胞凋亡率逐渐升高, 呈现明显的时间和浓度依赖性($P < 0.05$)。同时HepG2细胞周期进程有所改变, 表现为G₀/G₁期细胞比例显著升高, S期细胞比例显著降低, 且呈时间及浓度依赖性($P < 0.05$) (表2, 图2)。

2.3 渥曼青霉素对HepG2细胞pAkt, Skp2和P27^{kip1}蛋白表达的影响 Western blot结果显示: 随着药

表 1 渥曼青霉素对HepG2细胞的增殖抑制作用 ($n = 6$, mean \pm SD)

渥曼青霉素(nmol/L)	抑制率(%)		
	3 h	10 h	24 h
0	—	—	—
10	14.46 \pm 2.35	21.84 \pm 5.22 ^g	30.33 \pm 1.53 ⁱ
50	20.13 \pm 2.52 ^a	30.37 \pm 2.33 ^{ag}	39.72 \pm 6.08 ^{ai}
100	28.44 \pm 3.77 ^c	45.88 \pm 9.70 ^{cg}	56.07 \pm 3.06 ^{ci}
200	37.59 \pm 2.37 ^e	58.02 \pm 4.16 ^{eg}	74.93 \pm 3.25 ^{ei}

^a $P < 0.05$ vs 10 nmol/L; ^c $P < 0.05$ vs 10, 50 nmol/L; ^g $P < 0.05$ vs 10, 50, 100 nmol/L; ⁱ $P < 0.05$ vs 3 h; ^j $P < 0.05$ vs 3, 10 h.

表 2 渥曼青霉素对HepG2细胞周期及凋亡的影响 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组	凋亡率(%)	细胞周期分布 (%)		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
处理10 h浓度(nmol/L)				
0(Control)	2.10 ± 0.12	33.77 ± 2.93	50.90 ± 5.52	15.33 ± 2.60
50	8.46 ± 1.17 ^a	42.20 ± 4.11 ^a	39.93 ± 3.92 ^a	17.90 ± 0.50
100	13.76 ± 2.47 ^c	55.23 ± 3.90 ^c	31.87 ± 2.31 ^a	12.90 ± 1.64
200	28.03 ± 2.67 ^e	71.00 ± 5.17 ^e	17.17 ± 1.86 ^e	11.80 ± 3.90
浓度100 nmol/L处理时间(h)				
3	3.95 ± 1.07	41.17 ± 4.71	39.80 ± 4.16 ^a	19.03 ± 0.78
24	26.34 ± 3.25 ^g	68.10 ± 5.42 ^g	19.67 ± 3.87 ^g	12.23 ± 1.79

^a $P < 0.05$ vs 10 nmol/L; ^c $P < 0.05$ vs 10, 50 nmol/L; ^e $P < 0.05$ vs 10, 50, 100 nmol/L; ^g $P < 0.05$ vs 3 h; ^j $P < 0.05$ vs 3, 10 h.

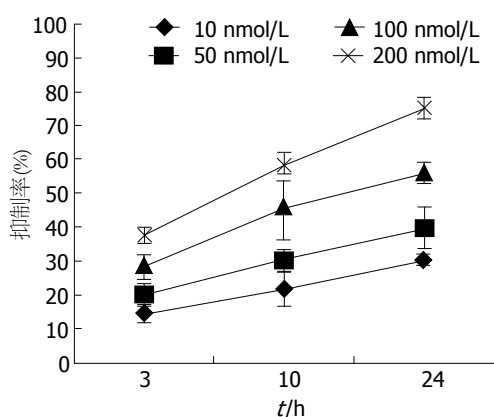


图 1 渥曼青霉素对HepG2细胞的增殖抑制作用.

物浓度的增加和作用时间的延长, pAkt和Skp2蛋白的表达水平逐渐降低, P27^{kip1}蛋白的表达水平逐渐升高, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$) (图3).

2.4 渥曼青霉素对HepG2细胞Skp2和P27^{kip1} mRNA表达的影响 RT-PCR检测结果显示: 随

着药物浓度的增加和作用时间的延长, Skp2 mRNA表达水平逐渐降低, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$), 而P27^{kip1} mRNA表达水平无明显变化(图4).

3 讨论

PI3K/Akt信号通路在广泛的人类肿瘤中表达失调, 如胃癌、前列腺癌、卵巢癌及乳腺癌等^[9-12]. 目前认为, Akt的活性调节主要依赖于PI3K, Ser473和Thr308位点的磷酸化是Akt激活的必要条件, 磷酸化Akt(pAkt)是PI3K/Akt信号通路的效应核心^[13], 而且pAkt处于细胞内多种信号途径的交汇点, 通过激活或抑制下游30余种靶蛋白, 参与多种细胞活动、物质代谢调节, 尤其是与促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、调控细胞周期等有密切关系^[14]. 渥曼青霉素分离自丝状真菌, 通过与PI3K的催化亚基p110结合, 不可逆的抑制PI3K的激酶活性, 从而阻断PI3K/Akt信号通路^[15]. 本实验发现, 渥曼青霉素可抑制HepG2细

■创新盘点

本实验证实阻断PI3K/Akt通路可导致肝癌细胞的增殖抑制并引发周期阻滞及凋亡, 并从mRNA及蛋白水平分析了Skp2及P27^{kip1}在其中发挥的作用, 发现PI3K/Akt信号通路直接或间接的参与Skp2及P27^{kip1}的调控.

■应用要点

本实验发现PI3K/Akt通路抑制剂渥曼青霉素具有一定的抑癌作用,并初步分析了其作用机制,为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝癌临床辅助治疗提供了一定的实验基础及理论依据。

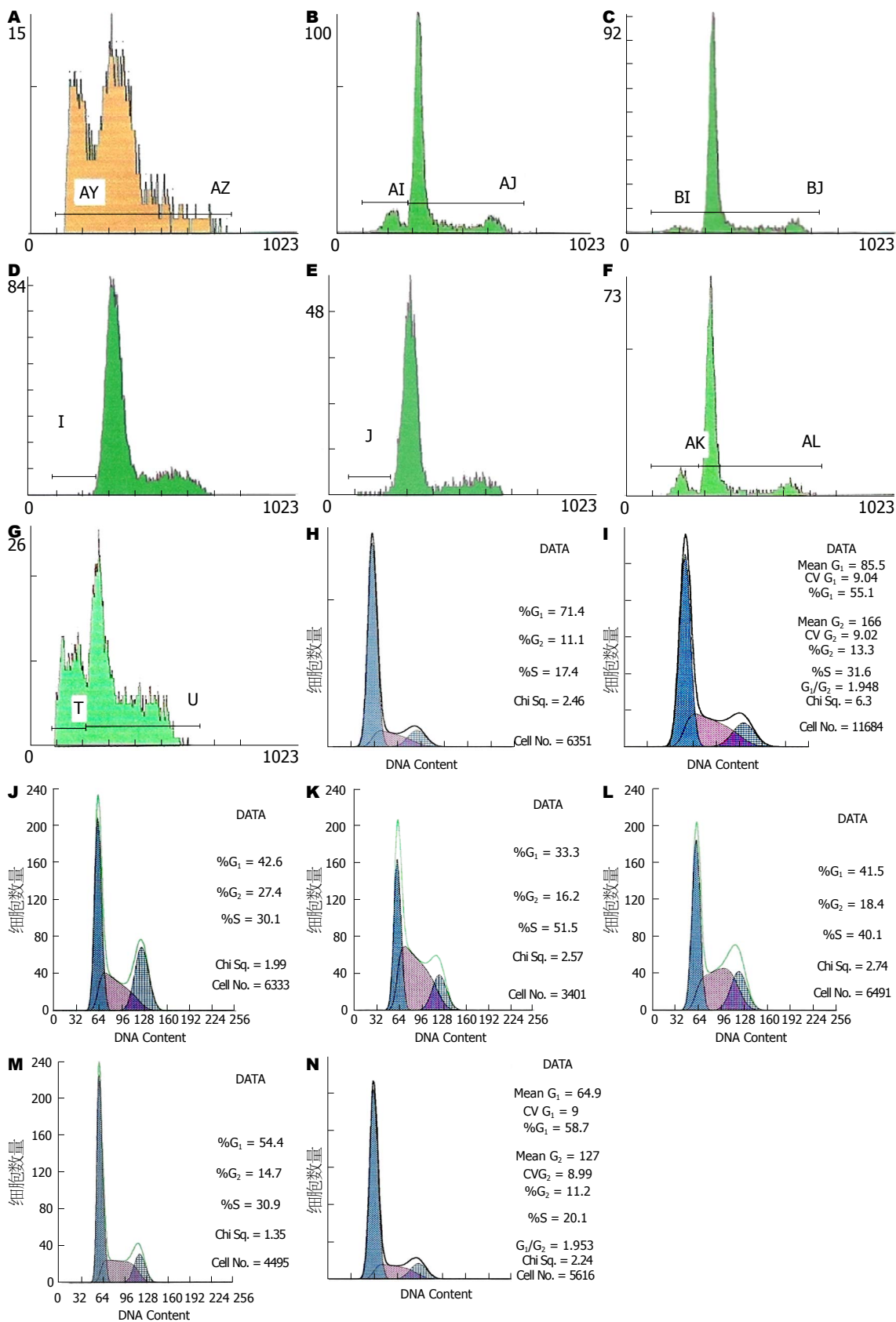
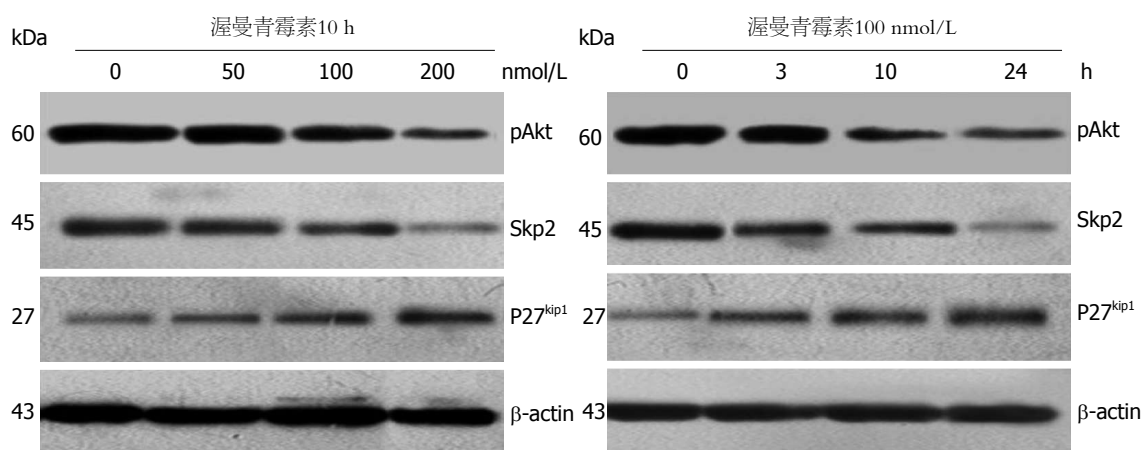
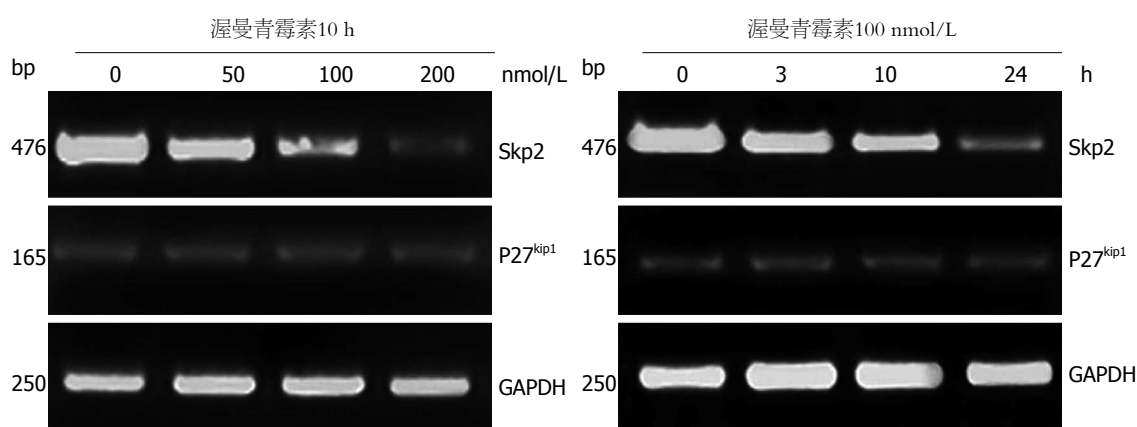


图2 渥曼青霉素对HepG2细胞周期及凋亡的影响。A: 200 nmol/L 10 h; B: 100 nmol/L 10 h; C: 50 nmol/L 10 h; D: 0(Control); E: 100 nmol/L 3 h; F: 100 nmol/L 10 h; G: 100 nmol/L 24 h; H: 200 nmol/L 10 h; I: 100 nmol/L 10 h; J: 50 nmol/L 10 h; K: 0(Control); L: 100 nmol/L 3 h; M: 100 nmol/L 10 h; N: 100 nmol/L 24 h。

图 3 渥曼青霉素对HepG2细胞pAkt, Skp2和P27^{kip1}蛋白表达的影响.

■同行评价

本实验通过研究不同浓度的渥曼青霉素(0、10、50、100、200 nmol/L)分别作用于对数生长期的肝癌HepG2细胞, 观察细胞凋亡率及细胞周期的变化, 得出渥曼青霉素抑制人肝癌HepG2细胞的增殖, 有一定科学价值.

图 4 渥曼青霉素对HepG2细胞Skp2和P27^{kip1} mRNA表达的影响.

胞的增殖、诱导凋亡并导致细胞发生G₀/G₁期阻滞, 同时伴有pAkt蛋白表达水平明显下调, 且此效应一定范围内具有明显的时间及浓度依赖性, 说明人肝癌HepG2细胞中存在PI3K/Akt信号通路, 渥曼青霉素的上述作用与阻断PI3K/Akt信号通路有关. Yun等^[16]将渥曼青霉素作用于人乳腺癌MCF-7细胞, 也得出了与本实验一致的结论.

P27^{kip1}是细胞周期负性调控因子, 主要抑制CyclinE-CDK2和CyclinD-CDK4等G₁期激酶复合物活性, 使细胞停滞于G₁期, 防止细胞过度增殖, 并与细胞凋亡有着密切的关系^[17]. 本实验经流式细胞学检测发现, 渥曼青霉素引发了HepG2细胞的G₀/G₁期阻滞, 同时细胞凋亡率也明显升高, 故此我们考虑P27^{kip1}可能参与其中. 我们进一步以浓度和时间两种方式研究了经渥曼青霉素处理后HepG2细胞P27^{kip1}的表达变化, 发现P27^{kip1}在mRNA水平无明显变化, 而蛋白表达水平明显升高, 此结果提示阻断PI3K/Akt信号通路引发的效应与P27^{kip1}蛋白水平上调有关. 许多研

究发现, 大多数肿瘤中P27^{kip1}很少发生基因缺失或突变, 转录水平也很少发生改变, 对P27^{kip1}的调控主要发生在翻译后水平^[18,19]. 我们的实验也发现P27^{kip1}在转录水平未受到渥曼青霉素的影响. P27^{kip1}蛋白在肿瘤组织中的表达下调或缺失主要为其降解加速所致. 虽然目前对于P27^{kip1}蛋白降解的机制尚未完全明了, 但一般认为其主要的负性调节方式为Skp2介导的泛素-蛋白酶体途径^[20]. G₁晚期P27^{kip1}第187位苏氨酸被磷酸化, 随后被包括Skp2在内的泛素连接酶复合体(SCFSkp2)结合, 泛素化的P27^{kip1}在蛋白酶体内降解, 细胞由G₁期进入S期, 其中Skp2的参与是P27^{kip1}的泛素化和降解所必需的^[21].

人正常细胞中Skp2蛋白的表达水平是较低的, 而在绝大多数恶性肿瘤如大肠癌^[22]、前列腺癌^[23]、胃癌^[24]及肝细胞癌^[8]中表达明显增高, 与肿瘤的恶性生物学行为密切相关, 提示预后不良, 并且大都同时伴有P27^{kip1}蛋白的负性表达变化^[25]. 近期研究发现, PI3K/Akt信号通路可通

过控制转录因子*E2F1*与*Skp2*启动子的结合调节*Skp2*基因的表达,还可以通过直接磷酸化激活*Skp2*调控其稳定性,从而减少*Skp2*的降解^[26,27];因此可以将*Skp2*定义为PI3K/Akt信号通路的下游底物^[28]。我们进一步研究也证实,阻断PI3K/Akt信号通路可以在mRNA水平及翻译后水平同时下调HepG2细胞中*Skp2*的表达,说明*Skp2*为pAkt下游的靶基因,同时提示我们阻断PI3K/Akt信号通路可能通过下调*Skp2*间接上调P27^{kip1}蛋白的表达水平。Ho等^[29]在乳腺癌的研究中发现,钙蛋白酶2缺失导致的Akt活性降低,可通过叉头转录因子FoxO上调P27^{kip1}蛋白的表达。也有研究发现在肝癌细胞中pAkt可磷酸化P27^{kip1}蛋白的多个位点,其中第157位苏氨酸位于P27^{kip1}的核内定位信号区域,被磷酸化后P27^{kip1}将无法进入细胞核内发挥细胞周期调控的作用^[30]。这就说明P27^{kip1}蛋白功能的发挥不但与其表达水平有关,而且与其亚细胞定位有关,PI3K/Akt信号通路可直接参与P27^{kip1}蛋白功能的调控。

总之,PI3K/Akt信号通路抑制剂渥曼青霉素可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖,引发G₀/G₁期阻滞并诱导其凋亡,其机制可能与PI3K/Akt信号通路参与*Skp2*及P27^{kip1}调控有关。本实验也为以PI3K/Akt信号通路为靶点的肝细胞癌临床辅助治疗提供了一定的理论依据。

4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 裴新雷, 秦叔逵. 原发性肝癌的分子靶向治疗研究新进展. *临床肿瘤学杂志* 2008; 13: 1-10
- 3 张文杰, 禄韶英. 肝细胞癌的分子靶向治疗. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 331-337
- 4 Franke TF. PI3K/Akt: getting it right matters. *Oncogene* 2008; 27: 6473-6488 [PMID: 18955974 DOI: 10.1038/onc.2008.313]
- 5 De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N. The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16 Suppl 2: S17-S27 [PMID: 22443084 DOI: 10.1517/14728222.2011.639361]
- 6 Borriello A, Bencivenga D, Criscuolo M, Caldarelli I, Cucciolla V, Tramontano A, Borgia A, Spina A, Oliva A, Naviglio S, Della Ragione F. Targeting p27Kip1 protein: its relevance in the therapy of human cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2011; 15: 677-693 [PMID: 21355788 DOI: 10.1517/14728222.2011]
- 7 Barré B, Perkins ND. The Skp2 promoter integrates signaling through the NF-kappaB, p53, and Akt/GSK3beta pathways to regulate autophagy and apoptosis. *Mol Cell* 2010; 38: 524-538 [PMID: 20513428 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.03.018]
- 8 张萌, 彭利, 乔治斌, 何宏涛, 周焯, 徐卓, 杨涛, 梁占强. pAkt、Skp2和P27kip1蛋白在肝细胞癌中的表达及意义. *肿瘤防治研究* 2011; 38: 1283-1287
- 9 周晓东, 陈红霞, 关润年, 吕农华. Akt的活化对胃癌血管新生的促进作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 744-748
- 10 Priulla M, Calastretti A, Bruno P, Azzariti A, Paradiso A, Cinti G, Nicolin A. Preferential chemosensitization of PTEN-mutated prostate cells by silencing the Akt kinase. *Prostate* 2007; 67: 782-789 [PMID: 17373720]
- 11 Huang J, Zhang L, Greshock J, Collignon TA, Wang Y, Ward R, Katsaros D, Lassus H, Butzow R, Godwin AK, Testa JR, Nathanson KL, Gimotty PA, Coukos G, Weber BL, Degenhardt Y. Frequent genetic abnormalities of the PI3K/AKT pathway in primary ovarian cancer predict patient outcome. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 606-618 [PMID: 21563232 DOI: 10.1002/gcc.20883]
- 12 Foubert E, De Craene B, Berx G. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. The Snail1-Twist1 conspiracy in malignant breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2010; 12: 206 [PMID: 20594364 DOI: 10.1186/bcr2585]
- 13 Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 4387-4392 [PMID: 22199303]
- 14 Mosca E, Barcella M, Alfieri R, Bevilacqua A, Cinti G, Milanesi L. Systems biology of the metabolic network regulated by the Akt pathway. *Biotechnol Adv* 2012; 30: 131-141 [PMID: 21856401 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.004]
- 15 Workman P, Clarke PA, Raynaud FI, van Montfort RL. Drugging the PI3 kinome: from chemical tools to drugs in the clinic. *Cancer Res* 2010; 70: 2146-2157 [PMID: 20179189 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4355]
- 16 Yun J, Lv YG, Yao Q, Wang L, Li YP, Yi J. Wortmannin inhibits proliferation and induces apoptosis of MCF-7 breast cancer cells. *Eur J Gynaecol Oncol* 2012; 33: 367-369 [PMID: 23091892]
- 17 Mitrea DM, Yoon MK, Ou L, Kriwacki RW. Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27. *Biol Chem* 2012; 393: 259-274 [PMID: 23029651 DOI: 10.1515/hsz-2011-0254]
- 18 Lee J, Kim SS. The function of p27 KIP1 during tumor development. *Exp Mol Med* 2009; 41: 765-771 [PMID: 19887899 DOI: 10.3858/em.2009.41.11.102]
- 19 Yoon MK, Mitrea DM, Ou L, Kriwacki RW. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins p21 and p27. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 981-988 [PMID: 22988851]
- 20 Herskho DD. Oncogenic properties and prognostic implications of the ubiquitin ligase Skp2 in cancer. *Cancer* 2008; 112: 1415-1424 [PMID: 18260093 DOI: 10.1002/cncr.23317]
- 21 Kitagawa K, Kotake Y, Kitagawa M. Ubiquitin-mediated control of oncogene and tumor suppressor gene products. *Cancer Sci* 2009; 100: 1374-1381 [PMID: 19459846 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01196.x]
- 22 孙立春, 隋广杰, 刘亚琴. SKP2在大肠癌组织中的表达及预后意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2516-2520
- 23 Wang Z, Gao D, Fukushima H, Inuzuka H, Liu P, Wan L, Sarkar FH, Wei W. Skp2: a novel potential therapeutic target for prostate cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1825: 11-17 [PMID: 21963805 DOI: 10.1016/j.bbcan.2011.09.002]
- 24 Wei Z, Jiang X, Liu F, Qiao H, Zhou B, Zhai B, Zhang

- L, Zhang X, Han L, Jiang H, Krissansen GW, Sun X. Downregulation of Skp2 inhibits the growth and metastasis of gastric cancer cells in vitro and in vivo. *Tumour Biol* 2013; 34: 181-192 [PMID: 23229098 DOI: 10.1007/s13277-012-0527-8]
- 25 Wang G, Chan CH, Gao Y, Lin HK. Novel roles of Skp2 E3 ligase in cellular senescence, cancer progression, and metastasis. *Chin J Cancer* 2012; 31: 169-177 [PMID: 22200179 DOI: 10.5732/cjc.011.10319]
- 26 Chan CH, Lee SW, Wang J, Lin HK. Regulation of Skp2 expression and activity and its role in cancer progression. *ScientificWorldJournal* 2010; 10: 1001-1015 [PMID: 20526532 DOI: 10.1100/tsw.2010.89]
- 27 Lin HK, Wang G, Chen Z, Teruya-Feldstein J, Liu Y, Chan CH, Yang WL, Erdjument-Bromage H, Nakayama KI, Nimer S, Tempst P, Pandolfi PP. Phosphorylation-dependent regulation of cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 420-432 [PMID: 19270694 DOI: 10.1038/ncb1849]
- 28 Ecker K, Hengst L. Skp2: caught in the Akt. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 377-379 [PMID: 19337320 DOI: 10.1038/ncb0409-377]
- 29 Ho WC, Pikor L, Gao Y, Elliott BE, Greer PA. Calpain 2 regulates Akt-FoxO-p27(Kip1) protein signaling pathway in mammary carcinoma. *J Biol Chem* 2012; 287: 15458-15465 [PMID: 22427650 DOI: 10.1074/jbc.M112.349308]
- 30 He S, Lu M, Xue W, Wang Y, Zhao Y, Gao S, Ke Q, Liu Y, Li P, Cui X, Cheng C, Shen A. Phosphorylated p27Kip1 on Thr157 is an important prognosis in human hepatocellular carcinoma in vivo and in vitro. *Med Oncol* 2011; 28: 94-104 [PMID: 20108172 DOI: 10.1007/s12032-009-9408-4]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用

王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄

■背景资料

胰腺癌恶性程度高, 发病率呈逐年上升趋势, 诊断困难, 手术创伤大, 预后差, 加强其侵袭转移机制研究有助于治疗。纤溶酶(原)参与多种肿瘤早期细胞解离过程, 在肿瘤发生发展中起到重要的作用。

王怀涛, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄, 中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科 辽宁省沈阳市 110004

郭鸿飞, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

王怀涛, 硕士, 医师, 主要从事胰腺癌的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30973501

作者贡献分布: 此课题由王怀涛与谭晓冬设计; 研究过程由王怀涛、郭鸿飞、张峻、李捍司、杨一帆、王兆平、孙杨及张小薄操作完成; 研究所用试剂与分析工具由谭晓冬提供; 数据分析由王怀涛、郭鸿飞及谭晓冬完成; 本论文写作由王怀涛完成。

通讯作者: 谭晓冬, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科。tanxd@hotmail.com

电话: 024-96615-31111

收稿日期: 2013-05-04 修回日期: 2013-07-07

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells

Huai-Tao Wang, Hong-Fei Guo, Xiao-Dong Tan, Jun Zhang, Han-Si Li, Yi-Fan Yang, Zhao-Ping Wang, Yang Sun, Xiao-Bo Zhang

Huai-Tao Wang, Xiao-Dong Tan, Jun Zhang, Han-Si Li, Yi-Fan Yang, Zhao-Ping Wang, Yang Sun, Xiao-Bo Zhang, Department of Pancreatic and Thyroidal Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Hong-Fei Guo, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30973501

Correspondence to: Xiao-Dong Tan, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic and Thyroidal Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. tanxd@hotmail.com

Received: 2013-05-04 Revised: 2013-07-07

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To discuss the potential role of plasminogen cascade proteins in the dissociation and subsequent invasion of pancreatic cancer cells.

METHODS: The expression of plasminogen, urokinase type plasminogen activator (uPA) and uPA receptor (uPAR) was detected by Western blot and immunocytochemistry in cell lines and

by immunohistochemistry in tissue samples of pancreatic cancer. The correlation between expression of plasminogen cascade proteins and cell dissociation and invasion was analyzed.

RESULTS: Plasminogen, uPA and uPAR were strongly expressed in conditioned medium of dissociated pancreatic cancer cells (PC-1.0), but weakly expressed in conditioned medium of non-dissociated pancreatic cancer cells (PC-1). uPA treatment significantly induced the expression of plasminogen and uPAR in conditioned medium of non-dissociated pancreatic cancer cells (PC-1). Stronger expression of plasminogen and uPAR was observed at the invasive front end than at the center of human pancreatic cancer tissue. Plasmin treatment induced matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-7 and MMP-9 expression in PC-1 cells. Treatment with plasmin or uPA obviously induced invasiveness and dissociation of cell colonies in PC-1 cells.

CONCLUSION: The plasminogen cascade is involved in cell dissociation in the early stage of invasion of pancreatic cancer cells. The plasminogen cascade may be a potential molecular target for anti-invasion and anti-metastasis therapy for pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Invasion; Metastasis; Plasminogen; Urokinase type plasminogen activator; Urokinase type plasminogen activator receptor

Wang HT, Guo HF, Tan XD, Zhang J, Li HS, Yang YF, Wang ZP, Sun Y, Zhang XB. Involvement of plasminogen cascade proteins in the invasion of pancreatic cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2258-2266 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2258.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258>

摘要

目的: 探讨纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞解离和侵袭过程中的作用。

方法: 利用Western blot、免疫细胞化学、免疫组织化学和体外侵袭试验检测胰腺癌细胞

■同行评议者

陈洪, 副教授, 主任医师, 东南大学附属中大医院消化科; 夏时海, 副教授, 副主任医师, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

系和组织中纤溶酶(原)、尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)和uPA受体(uPAR)的表达, 分析其与细胞解离和侵袭的相关性。

结果: 纤溶酶(原)、uPA和uPAR蛋白在解离型高转移株胰腺癌细胞PC-1.0的条件培养基中高表达, 而在非解离型低转移株胰腺癌细胞PC-1的条件培养基中低表达。然而, 经uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中纤溶酶(原)和uPAR表达显著增加。并且, 纤溶酶(原)和uPAR在胰腺癌组织的侵袭前端的表达强于其在组织中心处的表达。此外, 纤溶酶处理可诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-7和MMP-9在PC-1细胞中的表达。PC-1细胞通过纤溶酶或uPA处理后可显著增强细胞解离和体外侵袭能力。

结论: 在胰腺癌细胞侵袭过程中, 纤溶酶(原)级联反应与细胞早期解离密切相关。纤溶酶(原)级联反应可作为抗胰腺癌侵袭转移分子靶向治疗的新靶点。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 侵袭; 转移; 纤溶酶(原); 尿激酶型纤溶酶原激活物; 尿激酶型纤溶酶原激活物受体

核心提示: 本研究通过检测纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞和组织中的表达情况, 明确其密切参与胰腺癌肿瘤侵袭早期阶段的细胞解离过程。本实验为胰腺癌侵袭转移的研究提供了理论依据, 也为抗胰腺癌侵袭转移分子靶向治疗提供新的靶点。

王怀涛, 郭鸿飞, 谭晓冬, 张峻, 李捍司, 杨一帆, 王兆平, 孙杨, 张小薄. 纤溶酶(原)级联蛋白在胰腺癌细胞侵袭过程中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2258-2266 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2258.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2258>

0 引言

胰腺癌是人类恶性程度最高的肿瘤之一, 具有很强的侵袭和转移特性^[1,2]。肿瘤的侵袭转移是一个多步骤的复杂过程^[3]。然而, 迄今为止, 胰腺癌侵袭转移过程的细胞和分子机制尚未完全明确。

在早期研究中, 我们已确定两种具有不同侵袭转移潜能的仓鼠胰腺癌细胞系[解离型高转移株胰腺癌细胞系, PC-1.0和非解离型低转移株胰腺癌细胞系, 非解离型细胞(pancreatic cancer, PC-1)]^[4]。在近期的研究中我们发现胰腺癌细胞

中基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase, MMP-7)和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)介导的促分裂素原活化蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase, MEK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号转导通路的活化与细胞解离和侵袭密切相关^[5-7]。另一方面, 分泌性蛋白酶的两个家族, 丝氨酸蛋白酶[本质上, 纤溶酶(原)]和MMP对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是非常重要的^[8,9]。纤溶酶的最重要的生理功能之一就是激活MMP-7^[10]。纤溶酶原激活物有两种类型, 分别为尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)和组织型纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, tPA)。纤溶酶原活化形成纤溶酶是通过tPA或者uPA结合到其受体(uPAR)上引起细胞外基质成分和基膜的逐步降解, 也可能引起金属蛋白激酶、潜在的生长因子的活化以及膜糖蛋白的水解^[11-13]。所有的这些过程都可能导致肿瘤的侵袭转移。然而关于胰腺癌早期侵袭转移过程(细胞解离)中纤溶酶(原)级联反应的作用的文章却很少。并且纤溶酶(原)级联反应与MMP在胰腺癌侵袭转移的早期阶段的关系尚未明确。

本研究通过检测纤溶酶(原)级联蛋白和MMP在胰腺癌中的表达情况来分析纤溶酶(原)级联蛋白参与胰腺癌细胞解离和侵袭过程以及在此过程中和MMP的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 本实验采用仓鼠胰腺癌细胞系PC-1.0和PC-1。其中非解离型低转移株细胞PC-1是通过BOP诱导的叙利亚仓鼠实验性胰腺癌模型建立。解离型高转移株细胞PC-1.0是由同系仓鼠皮下接种PC-1细胞产生的肝转移瘤建立^[4]。PC-1细胞呈岛样细胞克隆方式生长, 而PC-1.0细胞呈单个细胞方式生长。上述细胞均以RPMI 1640(Gibco-BRL, Grand Island, NY)培养, 并加10%胎牛血清(Bioserum, Victoria, Australia)、100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素, 在含5%CO₂的37 °C孵箱内培养。实验前上述细胞需无血清培养过夜。所有的组织样本均取自中国医科大学附属盛京医院胰腺甲状腺外科2009-10/2012-07实行手术治疗的37位胰腺癌患者, 其中男14例, 女23例, 年龄35-78岁, 平均63.5岁。这些样本在组织学上包括13例高分化, 20例中分化和4例低分

■ 研发前沿

纤溶酶(原)级联蛋白参与肿瘤侵袭的机制不清楚, 有少量相关研究报道其在胃癌、膀胱移行细胞癌、肾母细胞瘤、肝癌等恶性肿瘤中的作用, 目前关于其在胰腺癌中的作用机制不明确。

■相关报道

目前,已有研究发现纤溶酶(原)级联蛋白在多种肿瘤细胞中表达增强,介导基底膜的破坏和细胞外基质的降解,从而参与肿瘤的侵袭转移,但其具体作用机制有待进一步探索。

化腺癌。上述标本类型均经过组织学检查和病理诊断证实。本研究采用鼠抗纤溶酶原/纤溶酶抗体(American Diagnostica, CT),兔抗uPA抗体(Innovative Research, Southfield, MI),兔抗uPAR抗体(American Diagnostica)和山羊抗MMP-2、MMP-7和MMP-9抗体(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)。FITC标记的荧光抗体(Santa Cruz Biotechnology)作为二抗。

1.2 方法

1.2.1 细胞裂解产物的制备和细胞培养液的浓缩: 上述胰腺癌细胞在含10%胎牛血清的10 mL RPMI 1640培养液的90 mm 细胞培养皿中培养。当细胞生长到亚融合状态时,培养液用无血清培养液代替,并孵育36 h。实验组PC-1细胞用1 $\mu\text{g/mL}$ uPA处理(Innovative Research)。然后收集培养液上清,使用Vivaspin concentrator(Vivascience, Hannover, Germany)浓缩50倍。同时,细胞培养皿中加入1 mL RIPA蛋白裂解液(50 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 1%NP-40, 0.5%脱氧胆酸钠, 0.1%SDS, pH 7.5。使用前加入1 mmol/L 苯甲磺酰氟, 1 g/L亮氨酸酶素, 1 g/L抑肽酶),冰上反应15 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 5000 r/min离心5 min后将细胞裂解产物的上清液和浓缩的细胞培养液保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 中备用。

1.2.2 Western blot分析: 蛋白样本与4倍加样缓冲液混合, 95 $^{\circ}\text{C}$ 加热。取等量的20 μg 样本行7.5%聚丙烯酰胺平板凝胶电泳,利用PVDF膜(Bio-Rad),以含5%脱脂奶粉和0.1%Tween-20的PBS液在室温下封闭转膜2 h,然后用0.1%PBS/Tween-20稀释的一抗在4 $^{\circ}\text{C}$ 下培养过夜。漂洗后用0.1%PBS/Tween-20以1:5000稀释马源性过氧化物酶结合的二抗,漂洗2次15 min。以柯达科学成像胶片(Eastman Kodak Company, Rochester, NY)化学发光法检测信号强度。人纤溶酶原,纤溶酶(Innovative Research),uPA和uPAR阳性对照组(American Diagnostica)作为阳性对照。

1.2.3 免疫荧光染色和荧光强度(fluorescent intensity, FI)的分析: 上述各组细胞系种植于chamber slides中孵育。实验组PC-1细胞用5 $\mu\text{g/mL}$ 纤溶酶处理36 h。培养后,将细胞室温下以0.5%多聚甲醛固定10 min。为了明确纤溶酶(原)在细胞膜上的表达情况,细胞处理液中不含Triton X-100。用10%正常山羊血清阻滞30 min防止非特异性染色。之后加多克隆抗体(1:200,以含1%小牛白蛋白的PBS液稀释),在4 $^{\circ}\text{C}$ 下培养过夜。在室温下加若丹明标记的二抗培养2 h。上述各步骤间均以

PBS液冲洗3次,封片后上述细胞于共聚焦激光显微镜(FV500-IX, Olympus, Japan)下观察并摄取图像。对照组标本制备如下: (1)切片不用一抗处理; (2)正常山羊或鼠血清和非特异山羊或鼠IgG代替一抗。最后,利用Fluoview 500(version 4.3, Olympus, Japan)软件随机选取6处不同图像中纤溶酶(原)、MMP-2、MMP-7和MMP-9的表达在细胞总体、细胞核、细胞质及细胞膜的平均FI值,并将6个FI值的均值作为最终FI分析值。

1.2.4 体外侵袭实验: 体外侵袭实验采用Invasion Chambers(Bectn Dickinson Labware, Bedford, MA)检测细胞的体外侵袭能力。Transwell培养板上室加入500 μL 细胞悬液($1 \times 10^5/\text{mL}$)和相同体积的无血清培养液。将含1 mL含10%FBS的RPMI 1640培养基和等体积的Balb/3T3细胞的无血清培养基作为趋化因子的加入培养板下室中。PC-1.0细胞和PC-1细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养12 h,实验组PC-1细胞用5 $\mu\text{g/mL}$ 纤溶酶或1 $\mu\text{g/mL}$ uPA处理。取出小室,用湿棉签轻轻擦去凝胶和聚碳酸酯膜上表面的细胞,留下侵袭至Transwell底部膜的癌细胞,以固定后行Diff-Quik染色。在显微镜下(100倍视野)计数,以任意5个视野的细胞数的平均数作为侵袭至膜上的细胞,计算侵袭率,侵袭率 = 侵袭至膜上的细胞/种植的细胞数。

1.2.5 免疫组织化学分析: 免疫组织化学染色应用亲和素-生物素-过氧化物酶复合物技术(Vectorstain Elite ABC Kit; Vector Laboratories, Burlingame, CA)。外科切除组织样本应尽快用40g/L甲醛固定。然后用石蜡包埋并切成5 μm 的连续切片。脱蜡复水后,用1.5% H_2O_2 (甲醇)浸泡30 min以消除内源性过氧化物酶活性,并用蒸馏水洗3次。用正常山羊血清做非特异性封闭。加入一抗(含1%小牛血清PBS 1:200稀释, pH 7.4)室温2 h孵育。PBS洗涤3遍,生物素化二抗室温50 min孵育,洗涤3次,加卵白素过氧化物酶结合物孵育1 h,洗涤。最后, DAB- H_2O_2 (Vector Laboratories)室温显色。洗涤后,苏木精复染3 s,脱水,封片。对照组标本制作如下: (1)切片不用一抗处理; (2)正常鼠或兔血清和非特异鼠或兔IgG代替一抗。

统计学处理 采用Stat View计算机软件(SAS Institute Inc., Cary, NC)利用非配对Student's *t*检验分析不同实验组总细胞内、细胞核、细胞质及细胞膜的纤溶酶(原), MMP-2、MMP-7和MMP-9表达的平均FI值以及体外侵袭试验中胰腺癌细胞的数目。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

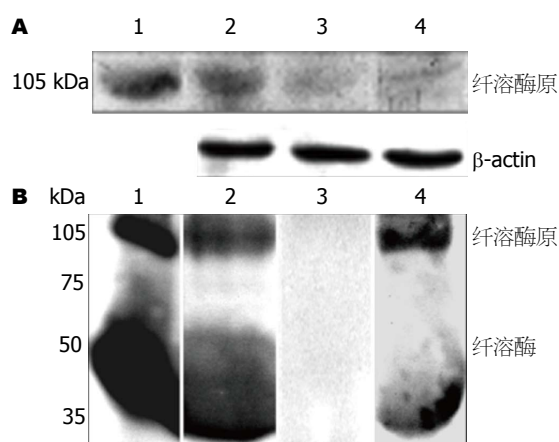


图1 纤溶酶(原)在胰腺癌细胞和细胞培养液中的表达。A: 胰腺癌细胞中纤溶酶原和纤溶酶蛋白的Western blot分析结果; B: 纤溶酶原和纤溶酶蛋白在细胞培养液中的Western blot结果。1: 阳性对照; 2: PC-1.0细胞; 3: PC-1细胞; 4: uPA处理过的PC-1细胞。

2 结果

2.1 解离型(PC-1.0)和非解离型(PC-1)胰腺癌细胞中纤溶酶(原)级联蛋白的差异表达

2.1.1 PC-1.0和PC-1细胞中纤溶酶(原)的表达: Western blot分析结果表明纤溶酶(原)在PC-1.0细胞中表达强于其在PC-1细胞中的表达。经uPA处理后的PC-1细胞中纤溶酶(原)的诱导表达没有明显变化(图1A)。相对于其在细胞中的表达, 应用Western blot检测纤溶酶原和纤溶酶在PC-1.0和PC-1细胞的培养液中的表达明显不同(图1B)。在PC-1.0细胞的培养液中检测出大量的纤溶酶原和纤溶酶蛋白, 而在PC-1细胞的培养液中未检测出。然而经uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中检测出纤溶酶原和纤溶酶蛋白的表达。

另外, 荧光染色图像进一步表明细胞膜上的纤溶酶(原)在PC-1.0细胞(FI: 33.6 ± 7.1 , 图2A)中的表达显著强于其在PC-1细胞(FI: 2.2 ± 0.8 , $P < 0.05$, 图2B)中的表达。然而胞浆中的纤溶酶原在PC-1.0细胞(FI: 7.5 ± 1.8 , 图2C)和PC-1细胞(FI: 8.0 ± 1.1 , $P > 0.05$, 图2D)中表达均较弱。荧光强度(FI)值列于图2E。

2.1.2 PC-1.0和PC-1细胞中uPA的表达: Western blot分析表明pro-uPA蛋白在PC-1.0和PC-1细胞内表达均很弱, 并无明显差异(图3A)。与此相反, 在PC-1.0细胞的条件培养基中发现了更多的uPA蛋白(图3B)。

2.1.3 PC-1.0和PC-1细胞中uPAR的表达: Western blot结果表明uPAR蛋白在PC-1.0和PC-1细胞内的表达无明显差异。并且, PC-1细胞经uPA处理

后细胞内uPAR的表达无明显的改变(图3C)。

然而, 在PC-1.0细胞的条件培养基中检测出可溶性uPAR(suPAR)蛋白, 而在PC-1细胞的条件培养基中几乎未检测出suPAR。uPA处理后的PC-1细胞的条件培养基中suPAR蛋白的表达显著增加(图3D)。

2.2 人类胰腺癌组织中纤溶酶(原)级联蛋白的表达 在胰腺非恶性肿瘤组织中, 纤溶酶(原)蛋白呈现微弱的免疫染色(图4A), 而uPAR(图4C)和uPA(图4E)蛋白无免疫染色。在胰腺癌组织中心(白色箭头)和侵袭前端(黑色箭头), 纤溶酶(原)(图4B)、uPAR(图4D)和uPA(图4F)蛋白的表达显著增加。并且在同一胰腺癌组织中, 侵袭前端处的纤溶酶(原)和uPAR蛋白的表达明显强于组织中间处的表达(图4B, D)。

2.3 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞形态学、细胞内MMP表达和体外侵袭的关系

2.3.1 PC-1细胞经纤溶酶或uPA处理后细胞解离的变化: 解离型胰腺癌细胞(PC-1.0)呈单个细胞方式生长(图5A), 而非解离型胰腺癌细胞(pancreatic cancer, PC-1)呈岛样细胞克隆方式生长(图5B)。然而, PC-1细胞经5 $\mu\text{g/mL}$ 纤溶酶或1 $\mu\text{g/mL}$ uPA处理36 h后出现明显的细胞克隆团解离(图5C, D)。

2.3.2 PC-1细胞经纤溶酶处理后MMP-2、MMP-7和MMP-9表达的变化: 在解离型胰腺癌细胞(PC-1.0)中, 可观察到细胞内MMP-2[荧光强度(FI): 15.6 ± 4.3 , 图6A], MMP-7(FI: 19.2 ± 5.2 , 图6B), 和MMP-9(FI: 22.6 ± 5.6 , 图6C)蛋白的强表达。然而, PC-1细胞内MMP-2(FI: 3.5 ± 1.7 , $P < 0.05$, 图6D), MMP-7(FI: 11.5 ± 2.9 , $P < 0.05$, 图6E)和MMP-9(FI: 3.4 ± 1.9 , $P < 0.05$, 图6F)蛋白的表达却很微弱。相比之下, 经纤溶酶处理后的PC-1细胞内MMP-2(FI: 32.0 ± 6.7 , $P < 0.05$, 图6G), MMP-7(FI: 23.7 ± 5.4 , $P < 0.05$, 图6H), MMP-9(FI: 18.6 ± 4.9 , $P < 0.05$, 图6I)蛋白的表达发生了明显的改变。MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达的FI值列于图6J。

2.3.3 PC-1细胞经纤溶酶或uPA处理后体外侵袭能力的变化: 如图7表示, 解离型细胞(PC-1.0)呈现出一种强侵袭力(侵袭细胞数量 = 31.3 ± 4.2)。PC-1却呈现出一种弱侵袭力(侵袭细胞数量 = 10.7 ± 3.1 , $P < 0.01$)。然而PC-1细胞经过纤溶酶或uPA处理12 h后侵袭力显著增强, 侵袭细胞数量分别为 60.3 ± 11.5 , $P < 0.01$ 和 32.7 ± 7.4 , $P < 0.01$ 。

■创新盘点

本研究利用多方法, 多角度检测尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator)及其受体, 纤溶酶(原)在不同侵袭潜能的胰腺癌细胞系中的表达情况, 通过增加不同的处理因素来观察表达的变化情况来探讨其对胰腺癌细胞解离过程中的作用机制。

■应用要点

本实验明确了纤溶酶(原)在胰腺癌侵袭过程早期的细胞解离阶段的具体机制. 为胰腺癌分子靶向治疗提供了新靶点.

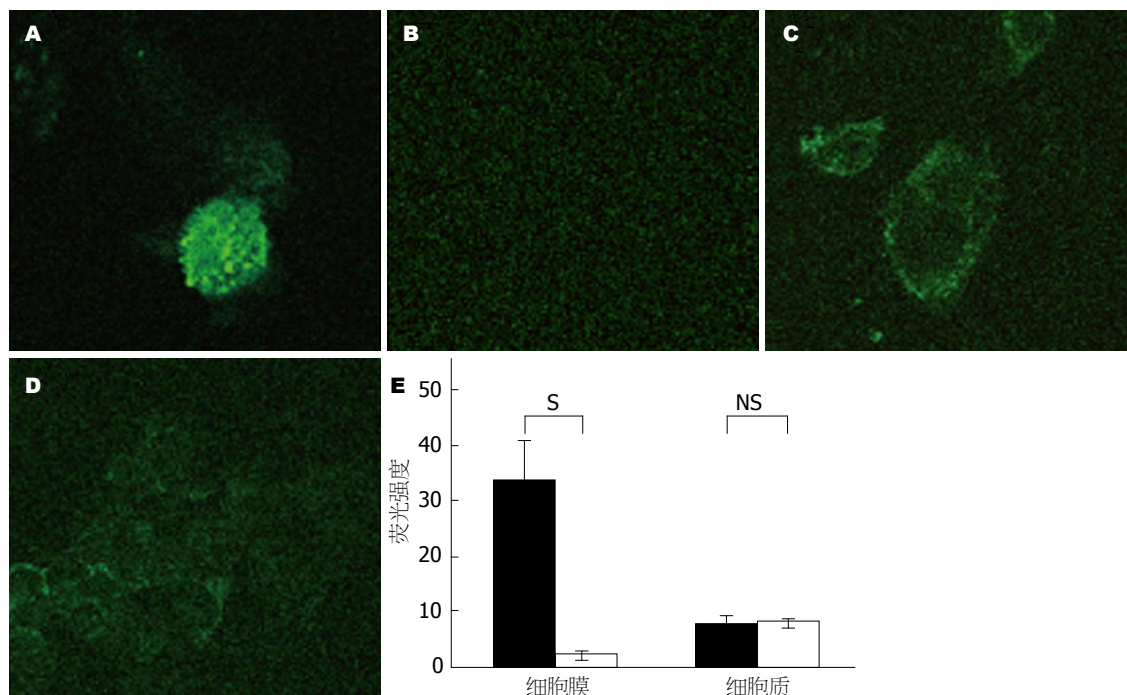


图2 纤溶酶(原)在细胞中的定位. A: 纤溶酶(原)在PC-1.0细胞膜上的表达; B: 纤溶酶(原)在PC-1细胞膜上的表达; C: 纤溶酶原在PC-1.0细胞浆中的表达情况; D: 纤溶酶原在PC-1细胞浆中的表达情况. 免疫荧光染色 $\times 400$. E: 纤溶酶(原)表达的FI值. 黑条: PC-1.0细胞; 白条: PC-1细胞; S: 差异显著; NS: 差异不显著.

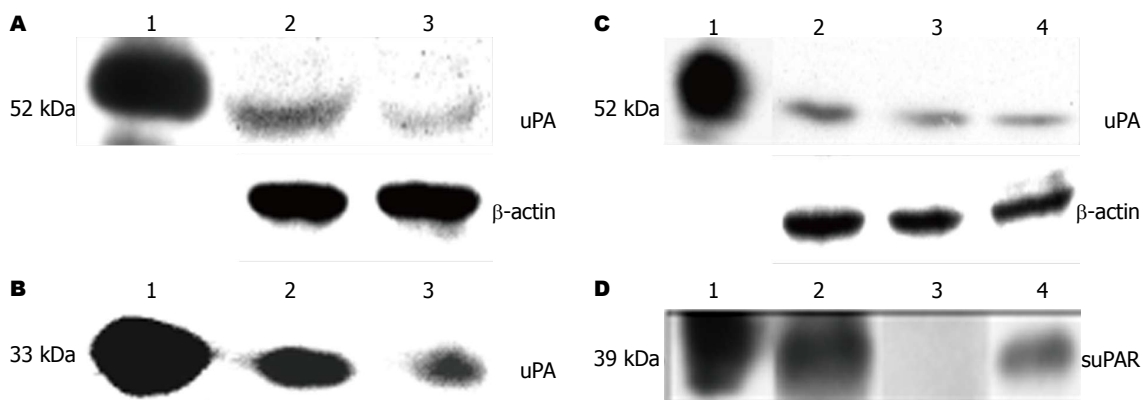


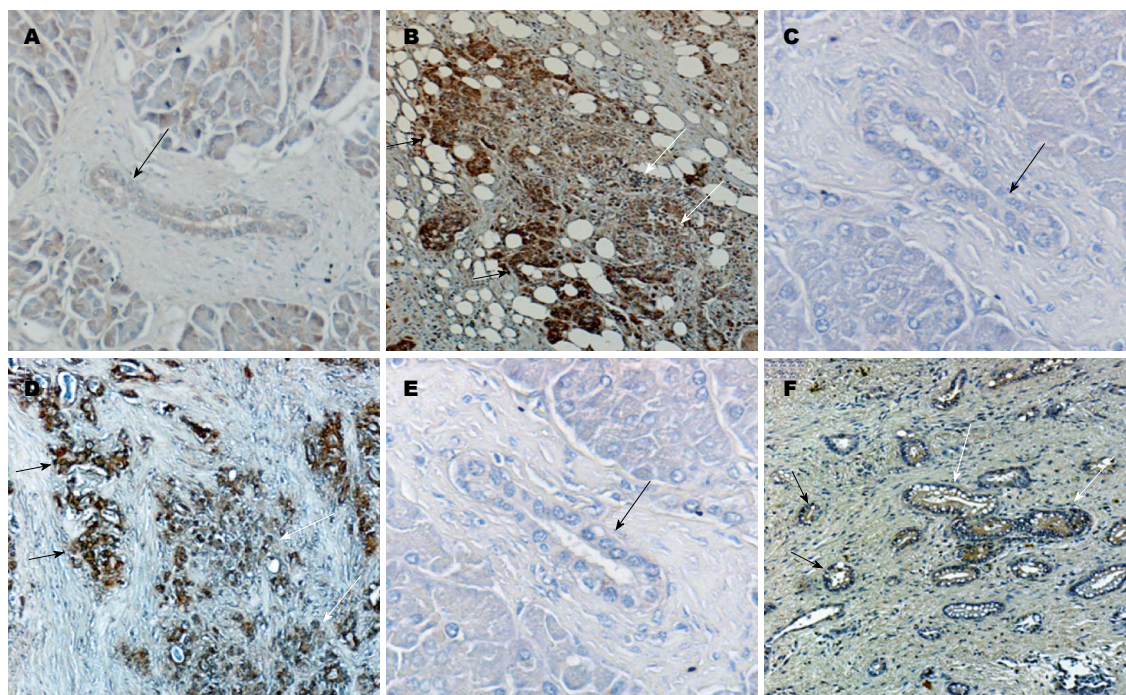
图3 uPA和uPAR蛋白在胰腺癌细胞中的表达. A: uPA在细胞内的表达; B: uPA在条件培养基中的表达; C: uPAR在细胞内的表达; D: uPAR在条件培养基中的表达. 1: 阳性对照; 2: PC-1.0细胞; 3: PC-1细胞; 4: uPA处理过的PC-1细胞. uPA: 尿激酶型纤溶酶原激活物; suPAR: 可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体.

3 讨论

细胞周围蛋白水解在肿瘤细胞侵袭过程中起到关键作用^[14-16]. 纤溶酶可直接和间接(通过激活某些MMP)降解细胞外基质和基底膜的蛋白质, 从而促进细胞外基质降解、肿瘤细胞增殖、侵袭和转移^[17]. 本研究表明, 纤溶酶(原)蛋白在不同解离状态和侵袭力的胰腺癌细胞中均强表达. 解离型胰腺癌细胞呈单个细胞生长方式, 具有高侵袭能力, 纤溶酶(原)蛋白在此类细胞胞膜和培养液中呈现强表达状态. 相比之下, PC-1呈岛样细胞克隆方式生长, 具有较弱的侵袭力, 纤溶酶(原)蛋白在此类细胞胞膜和培养液中不表达.

此外, PC-1经纤溶酶处理后细胞解离和体外侵袭能力明显地增加. 纤溶酶(原)蛋白在人类胰腺癌组织中呈现强表达, 并且纤溶酶在肿瘤组织侵袭前端处的表达强于其在肿瘤中心处的表达. 总的来说, 目前的结果表明, 纤溶酶(原)密切参与胰腺癌细胞的侵袭转移过程, 尤其是细胞解离过程, 这是其第一个重要步骤^[18,19]. 纤溶酶(原)在胰腺癌细胞膜和培养液中存在差异表达, 而不是在胞质中, 这可能意味着纤溶酶(原)和其他分子的相互作用对于纤溶酶(原)功能的激活是必需的.

另一方面, 基底膜的主要成分是IV型胶



■同行评价
本文设计合理, 角度全面, 结果客观, 具有一定的科学意义。

图 4 纤溶酶(原)级联蛋白在人类胰腺癌组织中的表达: A: 纤溶酶(原)在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; B: 纤溶酶(原)在胰腺恶性肿瘤组织中的表达; C: uPAR在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; D: uPAR在胰腺恶性肿瘤组织中的表达; E: uPA在胰腺非恶性肿瘤组织中的表达; F: uPA在胰腺恶性肿瘤组织中的表达. uPA: 尿激酶型纤溶酶原激活物。

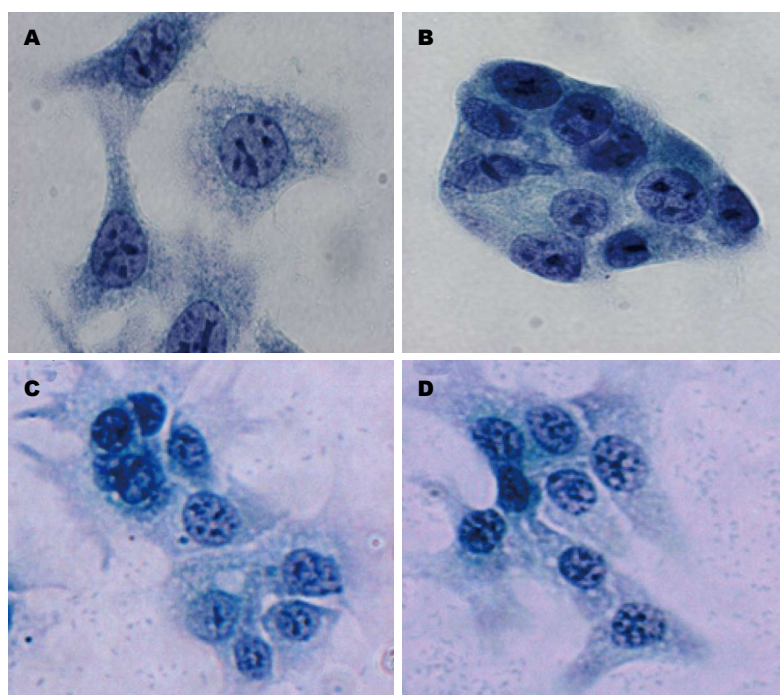


图 5 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞形态学的关系(巴氏染色 × 400). A: 解离型胰腺癌细胞(PC-1.0细胞)的生长方式; B: 非解离型胰腺癌细胞(PC-1细胞)的生长方式; C: PC-1细胞经纤溶酶处理后的生长方式; D: PC-1细胞经uPA处理后的生长方式。

原、层粘连蛋白、硫酸乙酰肝素蛋白多糖和巢蛋白^[20]. 明胶酶A(MMP-2)和明胶酶B(MMP-9)在肿瘤细胞中的平衡被认为是和细胞的侵袭性有关^[21,22]. 此外, 有报道称MMP-7阳性和胰腺癌肿瘤侵袭、淋巴结及远端转移程度密切相关^[23-25]. 在本研究中, PC-1经纤溶酶处理后细胞

解离和MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白的表达明显改变. 这些结果表明, 纤溶酶(原)级联蛋白和MMPs的相互作用降解细胞外基质. 此外, 几种激活的MMP可以激活其他的MMP, 从而形成一个正反馈机制^[26,27], 从而胰腺癌细胞的解离和侵袭力被诱导增强了.

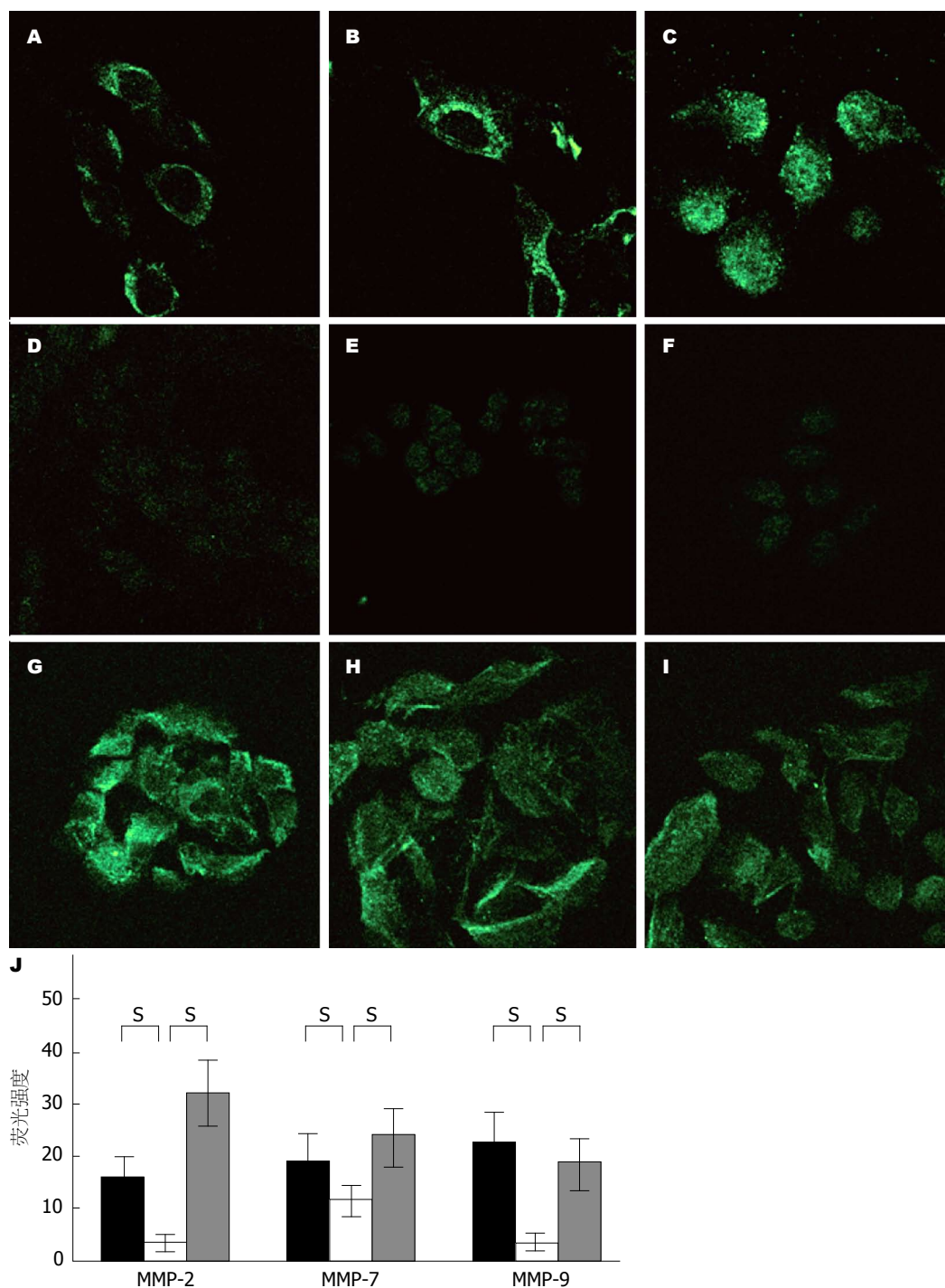


图6 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞内基质金属蛋白酶(MMP)表达的关系. A, B, C: 分别为解离型胰腺癌细胞(PC-1.0)中MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达; D, E, F: 分别为非解离型胰腺癌细胞(PC-1)中MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达; G, H, I: PC-1细胞经纤溶酶处理后MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达变化. 免疫荧光染色 $\times 400$. MMP-2, MMP-7和MMP-9蛋白表达的荧光强度(FI)值列于J. 黑色柱: PC-1.0细胞; 白色柱: PC-1细胞; 灰色柱: 纤溶酶处理PC-1细胞; S: 显著.

uPA, 纤溶酶(原)级联反应中另一个重要的分子, 在解离型和PC-1的培养液中存在差异表达. uPA处理非解离型细胞可诱导纤溶酶(原)的表达, 细胞解离以及细胞侵袭力. 然而, tPA是另一种纤溶酶原的激活物, 在初步实验(数据未示出)中证实其在解离型和非解离型细胞的胞质或

培养液中的表达没有差异. 虽然tPA也可将纤溶酶原转换成纤溶酶, 但他主要参与纤维蛋白溶解^[28,29]. 这些结果表明, uPA可能是胰腺癌细胞解离中纤溶酶原的激活剂, 并参与随后的侵袭转移过程.

与细胞内的uPAR相比, 存在于体液中的

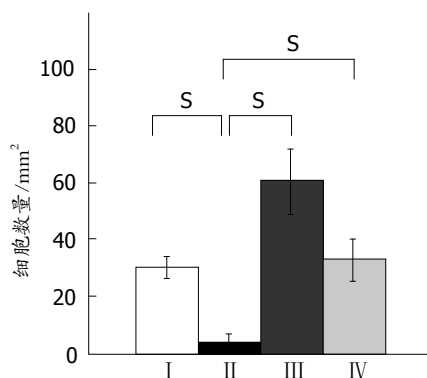


图7 纤溶酶(原)级联蛋白表达与胰腺癌细胞体外侵袭的关系。I: PC-1.0细胞; II: PC-1细胞; III: 纤溶酶处理后PC-1细胞; IV: uPA处理后PC-1细胞; S: 显著。

uPAR(可溶性的uPAR, suPAR)被认为是一个更重要的预后指标^[30,31]。虽然uPAR蛋白在解离型和非解离型细胞内的表达无明显差异,但是解离型细胞的培养液中suPAR蛋白多于非解离型细胞的培养液中的suPAR蛋白。另外,在uPA处理后的非解离型细胞的培养液中suPAR蛋白的表达显著增加。uPAR蛋白在人类胰腺癌组织中也呈现强表达,并且uPAR在肿瘤组织侵袭前端处的表达强于其在肿瘤中心处的表达。因此,所有这些数据表明,uPAR也是参与胰腺癌的侵袭转移过程的重要分子之一。然而,uPA在胰腺癌组织侵袭前端和中心处表达无差异,而uPAR和uPA在这两处的表达却存在差异,这可能意味着,在胰腺癌侵袭转移过程中除了和uPA结合外,uPAR可能独立发挥作用。

总之,纤溶酶(原)级联反应密切参与胰腺癌细胞的细胞解离和侵袭过程。纤溶酶原的产生、分泌和激活,可能是胰腺癌细胞解离和侵袭过程的限速步骤。通过研究胰腺癌的侵袭特性,如纤溶酶(原)级联反应,可能为胰腺癌的抗肿瘤治疗提供一个具有重要参考价值的新靶标。

4 参考文献

- Jaffee EM, Hruban RH, Canto M, Kern SE. Focus on pancreas cancer. *Cancer Cell* 2002; 2: 25-28 [PMID: 12150822 DOI: 10.1016/S1535-6108(02)00093-4]
- Real FX. A "catastrophic hypothesis" for pancreas cancer progression. *Gastroenterology* 2003; 124: 1958-1964 [DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00389-5]
- Torimura T, Ueno T, Kin M, Harada R, Nakamura T, Kawaguchi T, Harada M, Kumashiro R, Watanabe H, Avraham R, Sata M. Autocrine motility factor enhances hepatoma cell invasion across the basement membrane through activation of beta1 integrins. *Hepatology* 2001; 34: 62-71 [PMID: 11431735 DOI: 10.1053/jhep.2001.25546]
- Egami H, Tomioka T, Tempero M, Kay D, Pour

- PM. Development of intrapancreatic transplantable model of pancreatic duct adenocarcinoma in Syrian golden hamsters. *Am J Pathol* 1991; 138: 557-561 [PMID: 2000935]
- Hofmann I, Weiss A, Elain G, Schwaederle M, Sterker D, Romanet V, Schmelzle T, Lai A, Brachmann SM, Bentires-Alj M, Roberts TM, Sellers WR, Hofmann F, Maira SM. K-RAS mutant pancreatic tumors show higher sensitivity to MEK than to PI3K inhibition in vivo. *PLoS One* 2012; 7: e44146 [PMID: 22952903 DOI: 10.1371/journal.pone.0044146]
- Tan X, Egami H, Kamohara H, Ishikawa S, Kurizaki T, Yoshida N, Tamori Y, Takai E, Hirota M, Ogawa M. Involvement of the mitogen-activated protein kinase kinase 2 in the induction of cell dissociation in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2004; 24: 65-73 [PMID: 14654942]
- Tan X, Egami H, Ishikawa S, Sugita H, Kamohara H, Nakagawa M, Nozawa F, Abe M, Ogawa M. Involvement of matrix metalloproteinase-7 in invasion-metastasis through induction of cell dissociation in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2005; 26: 1283-1289 [PMID: 15809719 DOI: 10.1136/jcp.2004.025338]
- Keely PJ. Proteolytic remodeling of the ECM and the geometric control of stem cell fate. *Dev Cell* 2013; 25: 325-326 [PMID: 23725758 DOI: 10.1016/j.devcel.2013.05.012]
- Huttenlocher A. ECM: chemoattraction but not adhesion. *Blood* 2013; 121: 1489-1491 [PMID: 23449615 DOI: 10.1182/blood-2013-01-474221]
- Farina AR, Cappabianca L, Di Ianni N, Ruggeri P, Ragone M, Merolle S, Gulino A, Mackay AR. Alendronate promotes plasmin-mediated MMP-9 inactivation by exposing cryptic plasmin degradation sites within the MMP-9 catalytic domain. *FEBS Lett* 2012; 586: 2366-2374 [PMID: 22677171 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.05.048]
- Zhou DH, Yang LN, Roder C, Kalthoff H, Trauzold A. TRAIL-induced expression of uPA and IL-8 strongly enhanced by overexpression of TRAF2 and Bcl-xL in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 94-98 [PMID: 23392805 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60012-0]
- Taubert H, Magdolen V, Kotzsch M. Impact of expression of the uPA system in sarcomas. *Biomark Med* 2013; 7: 473-480 [PMID: 23734810 DOI: 10.2217/bmm.12.105]
- Mani T, Wang F, Knabe WE, Sinn AL, Khanna M, Jo I, Sandusky GE, Sledge GW, Jones DR, Khanna R, Pollok KE, Meroueh SO. Small-molecule inhibition of the uPAR•uPA interaction: synthesis, biochemical, cellular, in vivo pharmacokinetics and efficacy studies in breast cancer metastasis. *Bioorg Med Chem* 2013; 21: 2145-2155 [PMID: 23411397 DOI: 10.1016/j.bmc.2012.12.047]
- Martin KH, Hayes KE, Walk EL, Ammer AG, Markwell SM, Weed SA. Quantitative measurement of invadopodia-mediated extracellular matrix proteolysis in single and multicellular contexts. *J Vis Exp* 2012; (66): e4119 [PMID: 22952016 DOI: 10.3791/4119]
- Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin Cancer Biol* 2010; 20: 161-168 [PMID: 20470890 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.05.002]

- 16 Sugiyama N, Gucciardo E, Tatti O, Varjosalo M, Hyytiäinen M, Gstaiger M, Lehti K. EphA2 cleavage by MT1-MMP triggers single cancer cell invasion via homotypic cell repulsion. *J Cell Biol* 2013; 201: 467-484 [PMID: 23629968 DOI: 10.1083/jcb.201205176]
- 17 He XJ, Jiang XT, Ma YY, Xia YJ, Wang HJ, Guan TP, Shao QS, Tao HQ. REG4 contributes to the invasiveness of pancreatic cancer by upregulating MMP-7 and MMP-9. *Cancer Sci* 2012; 103: 2082-2091 [PMID: 22957785 DOI: 10.1111/cas.12018]
- 18 Wang W, Tan X, Zhou L, Gao F, Dai X. Involvement of the expression and redistribution of claudin-23 in pancreatic cancer cell dissociation. *Mol Med Rep* 2010; 3: 845-850 [PMID: 21472324 DOI: 10.3892/mmr.2010.334]
- 19 Tang Z, Geng G, Huang Q, Xu G, Hu H, Chen J, Li J. Expression of tissue factor pathway inhibitor 2 in human pancreatic carcinoma and its effect on tumor growth, invasion, and migration in vitro and in vivo. *J Surg Res* 2011; 167: 62-69 [PMID: 20018303 DOI: 10.1016/j.jss.2009.06.015]
- 20 Kawada M, Umezawa K. Suppression of in vitro invasion of human fibrosarcoma cells by a leupeptin analogue inhibiting the urokinase-plasmin system. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 25-30 [PMID: 7726842 DOI: 10.1006/bbrc.1995.1465]
- 21 Van Tubergen EA, Banerjee R, Liu M, Vander Broek R, Light E, Kuo S, Feinberg SE, Willis AL, Wolf G, Carey T, Bradford C, Prince M, Worden FP, Kirkwood KL, D'Silva NJ. Inactivation or loss of TTP promotes invasion in head and neck cancer via transcript stabilization and secretion of MMP9, MMP2, and IL-6. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1169-1179 [PMID: 23349315 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 22 Gao J, Ding F, Liu Q, Yao Y. Knockdown of MACC1 expression suppressed hepatocellular carcinoma cell migration and invasion and inhibited expression of MMP2 and MMP9. *Mol Cell Biochem* 2013; 376: 21-32 [PMID: 23232575 DOI: 10.1007/s11010-012-1545-y]
- 23 Ito TK, Ishii G, Saito S, Yano K, Hoshino A, Suzuki T, Ochiai A. Degradation of soluble VEGF receptor-1 by MMP-7 allows VEGF access to endothelial cells. *Blood* 2009; 113: 2363-2369 [PMID: 18974372 DOI: 10.1182/Blood-2008-08-172742]
- 24 Park JK, Kim MA, Ryu JK, Yoon YB, Kim SW, Han HS, Kang GH, Kim H, Hwang JH, Kim YT. Postoperative prognostic predictors of pancreatic ductal adenocarcinoma: clinical analysis and immunoprofile on tissue microarrays. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2664-2672 [PMID: 22395988 DOI: 10.1245/s10434-012-2277-7]
- 25 Shi WD, Meng ZQ, Chen Z, Lin JH, Zhou ZH, Liu LM. Identification of liver metastasis-related genes in a novel human pancreatic carcinoma cell model by microarray analysis. *Cancer Lett* 2009; 283: 84-91 [PMID: 19375852 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.03.030]
- 26 Ashina M, Tvedskov JF, Lipka K, Bilello J, Penkowa M, Olesen J. Matrix metalloproteinases during and outside of migraine attacks without aura. *Cephalalgia* 2010; 30: 303-310 [PMID: 19614693 DOI: 10.1111/j.1468-2982]
- 27 Lin L, Bankaitis E, Heimbach L, Li N, Abrink M, Pejler G, An L, Diaz LA, Werb Z, Liu Z. Dual targets for mouse mast cell protease-4 in mediating tissue damage in experimental bullous pemphigoid. *J Biol Chem* 2011; 286: 37358-37367 [PMID: 21880713 DOI: 10.1074/jbc.M111.272401]
- 28 Baron A, Hommet Y, Cassé F, Vivien D. Tissue-type plasminogen activator induces plasmin-dependent proteolysis of intracellular neuronal nitric oxide synthase. *Biol Cell* 2010; 102: 539-547 [PMID: 20636282 DOI: 10.1042/BC20100072]
- 29 Dejouvencel T, Doeuvre L, Lacroix R, Plawinski L, Dignat-George F, Lijnen HR, Anglés-Cano E. Fibrinolytic cross-talk: a new mechanism for plasmin formation. *Blood* 2010; 115: 2048-2056 [PMID: 19996088]
- 30 Jacobsen B, Muley T, Meister M, Dienemann H, Christensen IJ, Santoni-Rugiu E, Lærum OD, Ploug M. Ly6/uPAR-related protein C4.4A as a marker of solid growth pattern and poor prognosis in lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 152-160 [PMID: 23287851 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318279d503]
- 31 Fidan E, Mentese A, Ozdemir F, Deger O, Kavgaci H, Caner Karahan S, Aydin F. Diagnostic and prognostic significance of CA IX and suPAR in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 540 [PMID: 23512428 DOI: 10.1007/s12032-013-0540-9]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



小鼠放射性十二指肠炎模型的建立

万芝清, 陈晓, 周平, 韩根成, 王济东, 夏廷毅

万芝清, 陈晓, 周平, 王济东, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142

韩根成, 中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所分子免疫室 北京市 100850

万芝清, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 万芝清、陈晓、周平、韩根成、王济东及夏廷毅对此文所作贡献均等; 此课题由万芝清与陈晓设计; 研究过程由周平、韩根成、王济东及夏廷毅进行技术指导, 万芝清与陈晓操作完成; 数据分析由万芝清与陈晓完成; 本论文写作由万芝清完成。

通讯作者: 周平, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科。

zhouping4946@163.com

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-06-20

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis

Zhi-Qing Wan, Xiao Chen, Ping Zhou, Gen-Cheng Han, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia

Zhi-Qing Wan, Xiao Chen, Ping Zhou, Ji-Dong Wang, Ting-Yi Xia, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China

Gen-Cheng Han, Department of Molecular Immunology, Institute of Basic Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Correspondence to: Ping Zhou, Associate Professor, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China. zhouping4946@163.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-06-20

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To develop a mouse model of radiation-induced duodenitis.

METHODS: Ninety-three female Balb/c mice were randomly divided into seven groups: a control group ($n = 13$), a 4.5 Gy group ($n = 13$), a 6.0 Gy group ($n = 13$), a 9.0 Gy group ($n = 13$), a 12.0 Gy group ($n = 13$), a 13.5 Gy group ($n = 13$) and a 15.0 Gy group ($n = 15$). Mice were sacrificed 3.5 or 7.0 d after abdominal irradiation with a single dose of Cobalt-60. Duodenal samples were taken for histopathological analysis, and blood, spleen and mesenteric lymph nodes were sampled to detect the levels of inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), IL-1 β and tumor necrosis factor- α (TNF- α).

RESULTS: The levels of inflammatory factors

IL-6, IL-1 β and TNF- α increased in all the irradiation groups compared to the control group. The length of villi and the number of crypt were significantly reduced in the 12.0, 13.5 and 15.0 Gy groups compared to the control group on day 3.5, which was consistent with the changes in radiation-induced enteritis. The 13.5 and 15.0 Gy groups had a high mortality, and the 12.0 Gy group was better in simulating clinical radioactive duodenitis.

CONCLUSION: A mouse model of radiation-induced duodenitis can be successfully developed by abdominal irradiation with a single dose (12.0 Gy) of ^{60}Co .

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Radiation-induced duodenitis; Mouse model; Radiation dose

Wan ZQ, Chen X, Zhou P, Han GC, Wang JD, Xia TY. Development of a mouse model of radiation-induced duodenitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2267-2274 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2267.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2267>

摘要

目的: 建立小鼠放射性十二指肠炎模型。

方法: ♀ Balb/c小鼠93只, 随机分为对照组(13只)、4.5 Gy组(13只)、6.0 Gy组(13只)、9.0 Gy组(13只)、12.0 Gy组(13只)、13.5 Gy组(13只)、15.0 Gy组(15只), ^{60}Co 射线对小鼠上腹部一次性照射, 在照射后第3.5、7天处死解剖取十二指肠组织做病理切片, 并取肠系膜淋巴结、脾和外周血血清检测细胞因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)。

结果: 照射后3.5 d, 6个照射组促炎性因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 均较对照组升高; 照射后3.5 d, 12.0、13.5、15.0 Gy 3个照射组小鼠十二指肠绒毛高度降低, 隐窝深度变浅、数目减少, 隐窝腔变大, 均出现放射性肠炎改变, 13.5、15.0 Gy组死亡较多, 12.0 Gy组更能模

■背景资料

胰腺癌发病率呈上升趋势, 放疗成为重要的治疗手段, 由于胰腺位置毗邻十二指肠, 使得胰腺癌放疗过程中十二指肠放射性的损伤不可避免。

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

■ 研发前沿

目前关于放射性损伤的具体机制的研究成为热点,找到统一有效的防护药物成为亟待解决的问题。

拟临床放射性十二指肠炎,为研究提供模型。

结论: ^{60}Co 射线一次性腹部照射建立小鼠放射性十二指肠炎模型, 12 Gy照射剂量更为合适。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 放射性十二指肠炎; 小鼠模型; 照射剂量

核心提示: 急性放射性十二指肠炎模型的建立,采用 ^{60}Co 射线一次性腹部照射, 12 Gy照射剂量更为合适。在放射性十二指肠炎模型中炎症因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α)呈现高表达。

万芝清, 陈晓, 周平, 韩根成, 王济东, 夏廷毅. 小鼠放射性十二指肠炎模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2267-2274
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2267.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2267>

0 引言

随着胰腺恶性肿瘤发病率日益升高, 现代放疗技术已成为胰腺癌主要治疗手段。蔡晶、周桂霞、夏廷毅等^[1-4]采用伽马刀立体定向放射治疗胰腺癌总有效率88.4%, II-IV期1、2年总生存率分别为56.5%和23.1%, 已超过外科手术切除的效果。胰腺癌的根治性放射治疗在考虑肿瘤自身放射生物学因素外, 应充分评估放疗可能危及周围正常组织器官及功能^[5,6]。由于与胰腺的解剖关系, 十二指肠放射性损伤不可避免。既往放射性肠炎的研究多关注于空回肠及结肠, 对十二指肠放射性损伤的研究报道较少。为了便于开展十二指肠放射性损伤的研究, 本研究建立了接近临床需要的小鼠放射性十二指肠炎模型。

1 材料和方法

1.1 材料 ♀清洁级Balb/c小鼠93只, 6-8周龄, 体质量18-20 g, 由华阜康生物科技有限公司提供, 实验动物合格证许可证号: SLXK京2009-0007, 饲养于中国人民解放军军事医学科学院SPF级动物中心, 实验室条件: 温度21℃±2℃, 60%相对湿度, 自由饮水及实验室标准饲料喂养。PCR仪、实时定量PCR仪: 购自Bio-Rad公司; ELISA用酶标仪(MK3): 购自Thermo公司。Real-time PCR试剂盒: 购自TOYOBO公司(无水乙醇/异丙醇/三氯甲烷配套)。白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis

表 1 小鼠健康评分

标准		分数
活动	活跃	1
	静止	0
姿势	正常	1
	蜷缩	0
脱水	不脱水	1
	脱水	0
皮毛	光滑	1
	粗糙	0

健康评分包括4分(健康小鼠)和0分(病态小鼠)给予评价。

factor- α , TNF- α)ELISA试剂盒: 购自eBioscience公司。IL-6、IL-1 β 、TNF- α 抗体: 购自eBioscience公司(PBS洗液、1xAssay封闭液自制)。mIL-1 β 、mIL-6、mTNF- α 和mGAPDH引物购自北京天一辉远生物科技有限公司。反转录试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 照射条件: 军事医学科学院放射与辐射医学研究所 ^{60}Co 照射室给予照射。各组小鼠照射前给予禁食水6-8 h, 于照射前30 min给予麻醉药物0.04 mL/只腹腔注射麻醉, 药物为自制麻药速眠新联合氯胺酮(速眠新: 氯胺酮 = 1.5: 2)。麻醉完成后将小鼠固定在自制的小鼠固定架上, 给予 ^{60}Co 射线小鼠上腹部一次性照射, 照射范围为从剑突至剑突下1 cm, 照射面积约为1.0 cm×2.0 cm, 照射部位距离 ^{60}Co 照射源4 m, 小鼠除了上腹部暴露外, 其余部位均有专门设置的挡铅设备给予屏蔽, 照射剂量率为137.31 cGy/min, 不同剂量组照射时间分别为4.5 Gy组3 min, 6 Gy组4 min 50 s, 9 Gy组6 min 16 s, 12 Gy组8 min 27 s, 13.5 Gy组9 min 32 s, 15 Gy组10 min 37 s, 照射后待小鼠苏醒送回动物中心。

1.2.2 实验动物分组及一般情况观察 清洁级Balb/c♀小鼠93只, 6-8周龄, 体质量18-20 g, 按体质量随机分为: 0 Gy照射组(13只)、4.5 Gy照射组(13只)、6.0 Gy照射组(13只)、9 Gy照射组(13只)、12 Gy照射组(13只)、13.5 Gy照射组(13只)、15 Gy照射组(15只), 分组后放入军事医学科学院SPF级动物房内适应性喂养3 d, 白天黑夜12 h制, 温度21℃±2℃, 60%相对湿度, 自由饮水及实验室标准饲料喂养, 每日定时测量小鼠体质量, 观察小鼠精神状态、活动、进食水量。小鼠健康状况评分按照Van Landefhem等制定的

表 2 GAPDH/IL-6/TNF- α /IL-1 β 基因引物

名称	序列(5'→3')	GC含量(%)	溶解温度(°C)	长度(bp)
GAPDH下游引物	TCTTgggCTACACTgAggAC	55	60	20
GAPDH上游引物	CATACCAggAAATgAgCTTgA	42.8	60	21
IL-6下游引物	gATggATgCTACCAAACTggA	45	60	21
IL-6上游引物	TCTgAAggACTCTggCTTTg	47.6	60	20
TNF- α 下游引物	CAGCCTCTTCTCATTCTgC	55	60	20
TNF- α 上游引物	ggTCTgggCCATAgAACTgA	55	60	20
IL-1 β 下游引物	TgAAgCAGCTATggCAACTg	50	60	20
IL-1 β 上游引物	AggTCAAAGgTTTggAAGCA	45	60	20

IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; IFN: 干扰素.

小鼠健康评分系统^[7](表1). 并观察有无稀便、黏液脓血便等.

1.2.3 取材: 参考文献报道^[8], 于照射后第3.5天眼球取血后颈椎脱臼法处死小鼠, 小鼠处死前12 h禁食, 不禁水, 腹正中垂直切口, 依次暴露胃、十二指肠、空肠、回肠, 取肠系膜淋巴结及脾置于盛有生理盐水的玻璃平皿中, 通过Real-time PCR方法检测细胞因子, 从胃幽门部向下取十二指肠1 cm, 生理盐水冲洗干净, 40 g/L甲醛固定. 摘眼球取血置于1.5 mL EP管中, 通过ELISA方法检测炎症因子的浓度.

1.2.4 小鼠一般状态观察: 照射后每天观察小鼠精神状态、活动情况、进食水量及大便、体质量情况, 用健康评分法给予评分.

1.2.5 脾和肠系膜淋巴结组织中细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达分析: 将脾和肠系膜淋巴结, 研磨成组织匀浆, 2000 r/min, 离心5 min, 弃上清, 留底部沉淀物, TRIzol法提取细胞总RNA, 将总mRNA逆转录为cDNA, Real-time PCR, mLIL-1 β 、mIL-6、mTNF- α 和mGAPDH引物根据其引物总长进行设计, mLIL-1 β 、mIL-6、mTNF- α 和mGAPDH引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成, 引物序列如表2. Real-time PCR扩增反应采用20 μ L体系, RT-PCR扩增的条件: 第一步: 预变性95 $^{\circ}$ C 3 min, 反应1个循环; 第二步: 变性95 $^{\circ}$ C 10 s, 退火60 $^{\circ}$ C 15 s, 延伸72 $^{\circ}$ C 10 s(收集荧光), 反应50个循环; 第三步: 60 $^{\circ}$ C 30 s(收集溶解曲线), 反应71个循环. 扩增产物用实时定量PCR仪Bio-rad IQ5软件进行分析.

1.2.6 外周血中细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达变化: 取小鼠外周血于1.5 mL EP管中, 放于4 $^{\circ}$ C离心机中8000 r/min, 离心5 min, 置于-20 $^{\circ}$ C冰箱备用. ELISA双抗夹心法检测细胞因

子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 浓度, 结果通过酶标仪Ascent software versiona软件进行分析.

1.2.7 十二指肠组织病理学观察: (1)病理标本肉眼观察: 肠管颜色, 有无充血、水肿和肠腔扩张; (2)十二指肠组织镜下观察: 十二指肠组织生理盐水清洗后40 g/L甲醛溶液固定, 将固定好的1 cm十二指肠乙醇脱水, 石蜡包埋, 切片, HE染色, 镜下观察病理形态学变化, 观察十二指肠绒毛高度、黏膜厚度、隐窝深度、炎性细胞浸润, 用改良的Chiu氏法^[9]评价肠黏膜损伤程度, 于光镜下计算每单位长度肠壁的平均绒毛长度及肠隐窝深度.

统计学处理 使用SPSS13.0软件进行数据统计分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用t检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组小鼠受照射后一般状态及死亡情况 4.5、6.0、9.0 Gy照射组未见稀便, 照射后2 d出现不同程度的精神差, 食欲降低, 饮水量下降, 照射约5-7 d即可恢复正常, 12.0、13.5、15.0 Gy照射组照射后2 d出现精神极差、行动迟缓、皮毛粗糙、弓背行走及脱水现象, 均有程度不一的稀便, 偶有小鼠出现血便, 至照射后7 d仍未能好转, 其中13.5、15.0 Gy照射组出现小鼠死亡, 13.5 Gy组至第3.5天处死前, 共死亡4只, 总死亡率为30.1%, 15.0 Gy照射组至第3.5 d处死前, 共死亡6只, 总死亡率为40%. 各组小鼠体质量均有下降(图1), 4.5、6.0 Gy组在照射后5 d出现体质量回升, 余组持续下降, 以12.0、15.0 Gy组下降最为显著. 各组健康评分随照射后时间延长均有不同程度下降, 以12.0、13.5、15.0 Gy照射组

■相关报道

目前关于放射性肠炎的模型建立, 发病机制和药物治疗研究较多.

■创新盘点

本研究关注的十二指肠的放射性损伤,和既往放射性肠炎多关注结直肠、空回肠不同。

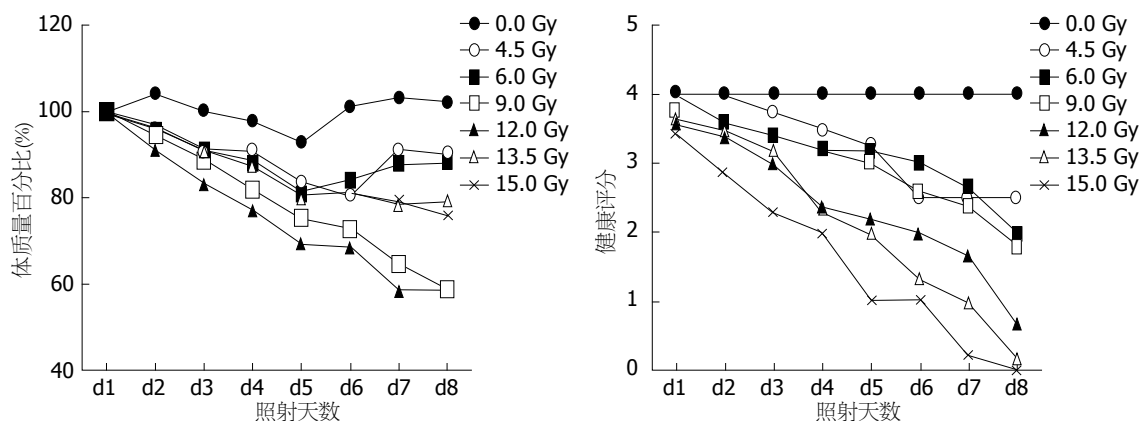


图1 图示⁶⁰Co小鼠腹部单次照射后不同剂量组小鼠体质量百分比和健康评分。

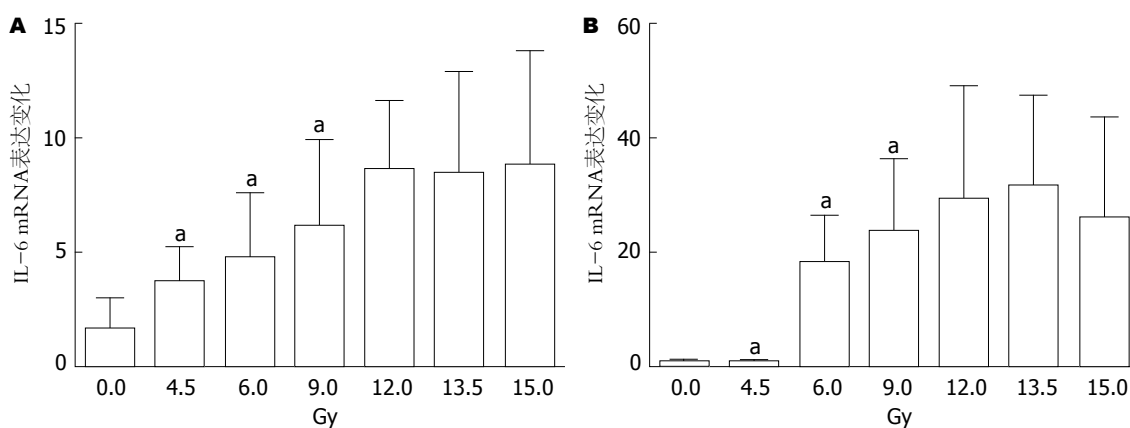


图2 Real-time PCR检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中IL-6 mRNA的表达变化。A: 脾; B: 肠系膜淋巴结。
* $P < 0.05$ vs 12 Gy组。

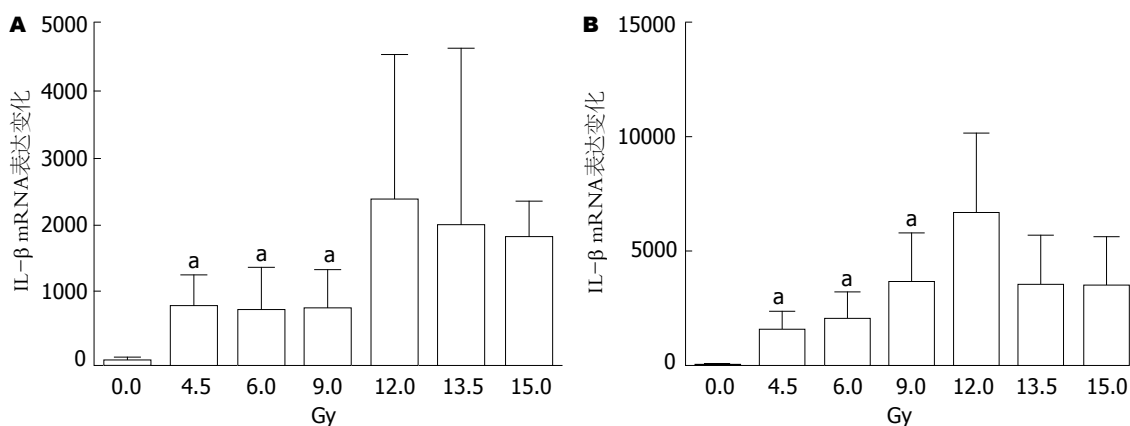


图3 Real-time PCR检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中IL-1β mRNA的表达变化。A: 脾; B: 肠系膜淋巴结。
* $P < 0.05$ vs 12 Gy组。

最为明显,三者与9.0 Gy组之间的差异有统计学意义($P < 0.05$),但彼此之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 十二指肠放射性损伤后脾、肠系膜淋巴结中IL-6、IL-1β、TNF-α的表达变化 为了进一步证明IL-6、IL-1β、TNF-α与放射性肠损伤的关

系,我们检测了不同受照剂量下小鼠脾及淋巴结组织中IL-6、IL-1β、TNF-α的表达变化。结果表明不同剂量组小鼠脾、肠系膜淋巴结组织中IL-6、IL-1β、TNF-α与空白对照组比较表达均有上升,而且随着剂量的提升,表达升高的趋势更为明显,以12 Gy剂量组表达上升最为显著,

表 3 小鼠十二指肠组织形态学变化 (mean ± SD)

分组	小鼠数量(n)	绒毛高度(h/ μ m)	隐窝深度(L/ μ m)
正常对照组	13	597.34 ± 44.30	431.09 ± 28.50
12 Gy剂量组	13	472.94 ± 70.55 ^{ad}	299.27 ± 52.13 ^a
15 Gy剂量组	15	336.10 ± 30.16 ^a	229.86 ± 45.66 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^d $P < 0.01$ 12 Gy剂量组 vs 15 Gy剂量组。

■应用要点

本文通过建立急性放射性十二指肠肠炎小鼠模型的建立, 能够更好的研究放射性肠炎的发病机制, 并能够为以后药物研究提供稳定的模型基础。

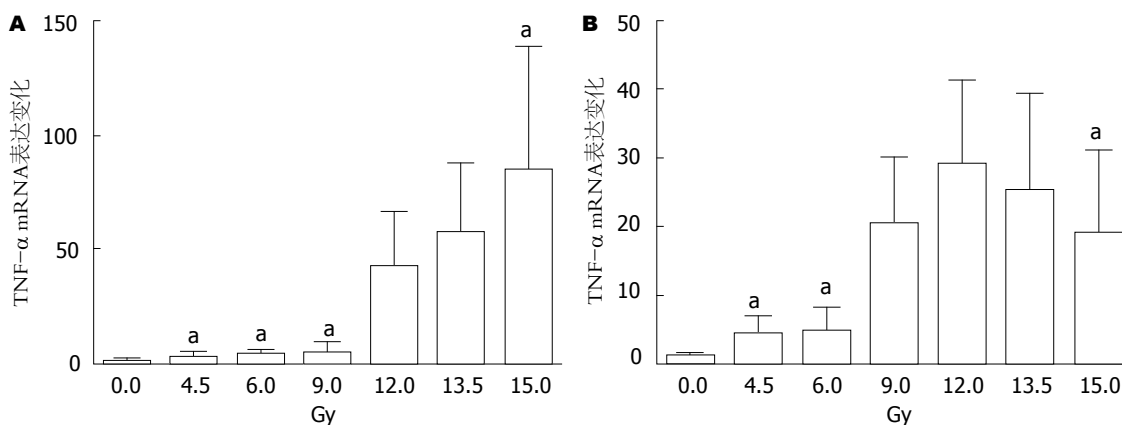


图 4 Real-time PCR 检测急性放射性肠炎模型中小鼠脾、肠系膜淋巴结中TNF- α mRNA的表达变化。A: 脾; B: 肠系膜淋巴结。* $P < 0.05$ vs 12 Gy组。

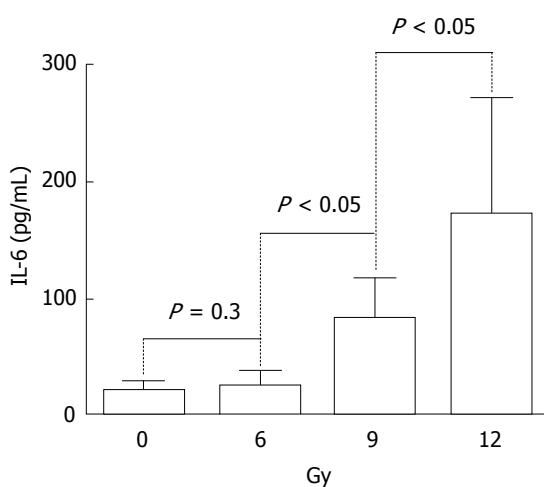


图 5 放射性肠损伤诱导机体分泌IL-6。IL: 白介素。

13.5、15 Gy剂量组升高趋势不如12 Gy剂量组明显, 如图2、图3、图4所示, 以上结果表明在放射性肠损伤中炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达上调, 参与炎症反应, 与既往研究基本一致。

2.3 十二指肠放射性损伤后血清中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的浓度变化 由于13.5、15.0 Gy组死亡率较高, 分别为30.1%(4/13)、40.0%(6/15), 所以我们仅通过ELISA双抗夹心法分别测定其余各剂量组及空白对照组血清中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的浓度。图5显示了不同剂量放射性十二

指肠损伤诱导机体分泌IL-6升高, 组间产生差异, IL-1 β 、TNF- α 结果与之相似, 在此未全给予图示。其中9.0 Gy、12.0 Gy照射组与空白对照差异有统计学意义($P < 0.05$), 6.0 Gy组与之仅有升高趋势, 差异无统计学意义($P = 0.30$)。

2.4 不同剂量照射组十二指肠放射性损伤的病理学观察

2.4.1 肉眼观察: 正常对照组小鼠肠管呈粉红色, 无充血、水肿、肠腔扩张。4.5、6.0、9.0 Gy照射剂量组小鼠肠管呈粉红色, 可见轻度水肿, 无充血、肠腔扩张。12.0、13.5、15.0 Gy剂量组肠管呈暗红色, 肠腔扩张、充血, 解剖时发现其肠壁脆性增高, 轻微碰触即可引起肠壁破裂, 有不同程度的肠壁变薄、黏膜出血。

2.4.2 镜下观察: 正常对照组肠绒毛长而整齐, 结构完整, 中央乳糜管清晰可见, 腺体结构正常。4.5、6.0、9.0 Gy组肠绒毛结构尚完整, 绒毛轻度水肿, 中央乳糜管可见, 腺体结构基本正常, 炎性细胞少量浸润; 12.0、13.5 Gy组肠绒毛变短、稀疏, 上皮不完整, 腺体裸露, 形成糜烂, 隐窝腔缩小, 大量炎性细胞浸润; 15.0 Gy组肠绒毛几乎全部脱落, 只剩少量点状突起, 上皮不完整, 中央乳糜管结构不清, 腺体及黏膜下层裸露, 固有层隐窝减少, 隐窝腔变大, 固有层结缔组织大量炎细

■同行评价

本文建立接近临床需要的小鼠放射性十二指肠炎模型,能够为下一步实验研究提供较好的动物模型,具有重要价值。

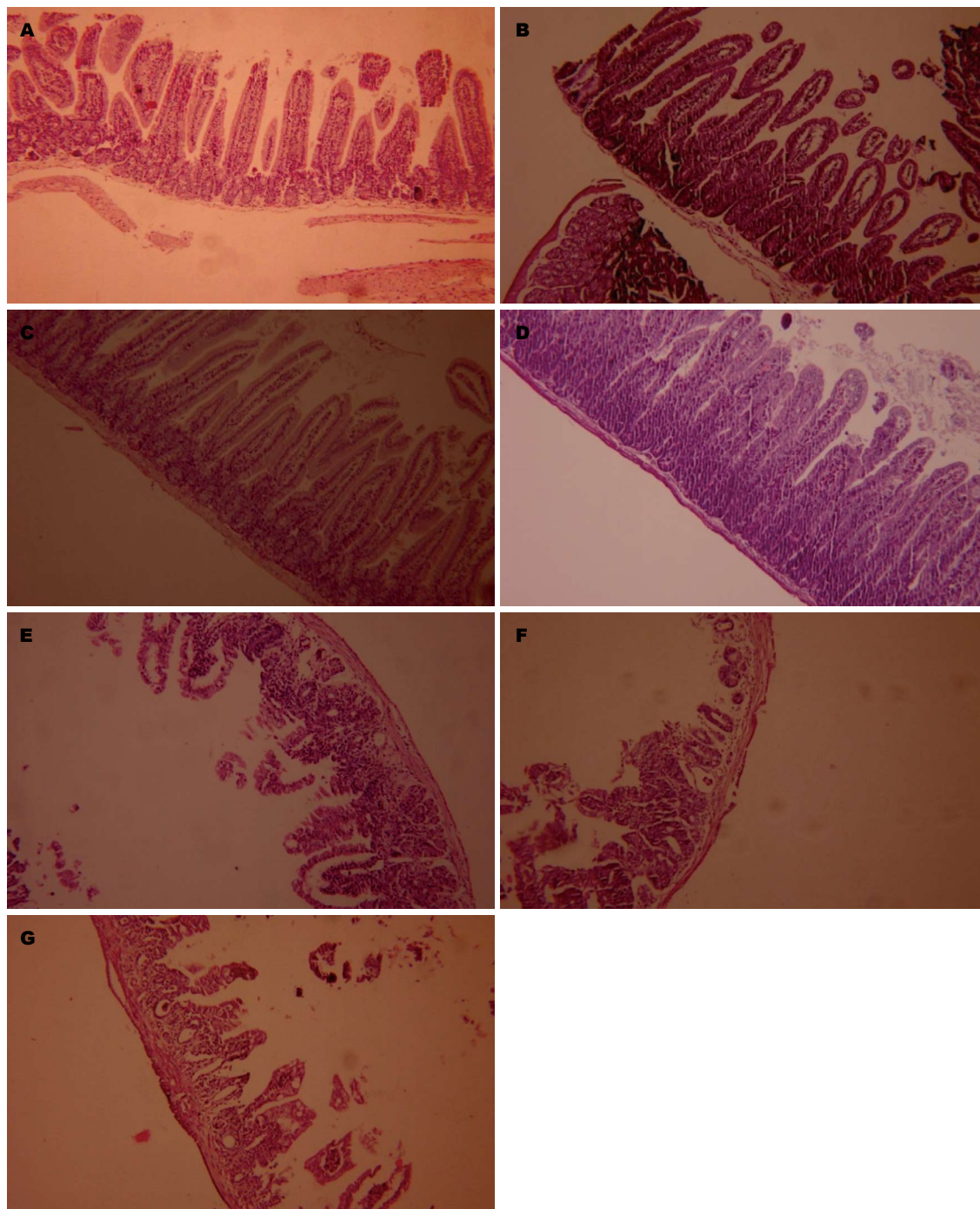


图6 不同剂量组小鼠十二指肠(照射后第3.5天, HE染色 $\times 100$)。A: 正常对照组; B: 4.5 Gy剂量照射组; C: 6 Gy剂量照射组; D: 9 Gy剂量照射组; E: 12 Gy剂量照射组; F: 13.5 Gy剂量照射组; G: 15 Gy剂量照射组。

胞浸润。12.0、13.5、15.0 Gy剂量组的病理表现均满足Guzman-Stein等^[10]制定的放射性肠炎模型标准。各剂量组病理组织图片如图6所示。

2.4.3 图像分析: 根据各剂量组十二指肠病理损伤表现和各组小鼠死亡率, 我们选取正常对照组、12 Gy剂量组和15 Gy剂量组, 测量其小鼠十二指肠平均绒毛高度和隐窝深度检测结果(表3): 12 Gy剂量组和15 Gy剂量组十二指肠绒毛

高度和隐窝深度均明显低于正常对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。12 Gy剂量组十二指肠绒毛高度较15 Gy剂量组高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 12 Gy剂量组十二指肠隐窝深度较15 Gy剂量组高, 差异无统计学意义($P = 0.80$)。

3 讨论

放射性十二指肠炎的发病机制复杂^[11-14], 目前尚

未完全清楚. 其病理生理学表现为: 放射线损伤肠道上皮细胞和血管内皮细胞, 使小肠绒毛变短, 肠黏膜变薄, 毛细血管扩张、水肿, 炎性细胞浸润, 形成肠黏膜的糜烂、溃疡, 肠壁增厚和肠腔狭窄, 使患者出现腹泻、腹痛、血便、脓血便或者肠梗阻等临床症状, 严重降低患者的生活质量, 目前治疗十分困难, 因此很有必要建立动物模型行进一步研究.

目前, 放射性肠炎模型的建立多见, 研究较多是空回肠及结直肠, 对十二指肠放射性损伤研究较少. 放射性肠炎模型, 造模时多采用大鼠腹部照射^[15-18], 小鼠全身照射^[19-22]. 腹部局部照射建立放射性十二指肠炎的模型, 文献未见报道. 本实验用小鼠上腹部局部照射造模, 能更好地模拟临床放射性十二指肠炎的形成过程.

文献报道, 小鼠全身造模的照射剂量最小为4 Gy^[19], 最大为12 Gy^[20], 小鼠全身接受12、15、16 Gy照射可以发生轻型肠型放射性损伤^[23], 小鼠腹部造模的最大剂量为10 Gy^[24]. 本实验分别取4.5、6.0、9.0、12.0、13.5、15.0 Gy较密梯度的剂量造模, 以确定用小鼠腹部局部照射建立放射性十二指肠炎的最佳剂量.

本实验研究结果显示, 各剂量照射组小鼠照射后均出现体质量下降, 健康评分降低, 4.5、6.0、9.0 Gy剂量组小鼠十二指肠大体观察和镜下组织形态学观察较正常对照组无明显变化. 12.0、13.5、15.0 Gy剂量组小鼠出现稀便、血便, 十二指肠大体观察见肠管呈暗红色, 肠腔扩张、充血; 镜下组织形态学观察见肠绒毛变短、稀疏, 上皮不完整, 中央乳糜管结构不清, 腺体裸露, 形成糜烂, 隐窝腔缩小, 大量炎性细胞浸润, 符合放射性肠炎的病理变化, 故用12.0、13.5、15.0 Gy剂量对小鼠腹部局部照射, 均能出现放射性十二指肠炎. 15 Gy剂量组十二指肠大体表现和镜下病理变化较12 Gy更明显, 更严重. 13.5 Gy剂量组和12.0 Gy剂量组十二指肠大体表现和镜下病理变化相似, 但13.5、15.0 Gy剂量组小鼠死亡率高, 很难用于进一步的实验研究.

既往文献报道, 细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 与放射性肠炎的发生、发展关系密切. IL-6、IL-1 β 、TNF- α 均为促炎性因子^[25,26], 由单核细胞和巨噬细胞产生, 在放射性肠炎中, 观察到放射治疗后6 h其开始高表达, 高转录水平一直要持续3 d. IL-6、IL-1 β 、TNF- α 均为急性炎性因子在辐射损伤后短时间内较为活跃, 其中IL-1 β 、TNF- α 更为显著, 而且IL-1 β 、TNF- α 有

可能与辐射损伤介导内毒素的释放有关^[28]; IL-1 β 的大量产生可以引起对中性粒细胞的趋化作用, 加重肠黏膜屏障的炎性损伤和组织破坏, 且促进肠黏膜细胞凋亡的过度发生, 影响肠上皮层的及时修复^[29]. 另外大量产生的IL-1 β , 能够引发细胞内信号级联反应, 激活核因子- κ B, 上调促炎症细胞因子的转录活性, 并提高其mRNA的稳定性, 从而引发炎症反应^[30]. 而且研究发现, 当肠道发生炎症时, IL-1 β 较其他炎症因子变化明显^[31]. 细胞因子TNF- α 可增强其他炎性细胞因子^[26]. IL-6在各系统的炎症性疾病中都有其参与^[32]. 另有研究表明, 减少促炎性细胞因子(IL-6、IL-1 β 、TNF- α)对局部组织的刺激, 可显著降低慢性炎症的风险^[33]. 本实验结果显示, 各剂量组照射后, 细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 均有明显升高, 与既往研究报道结果一致, 促进十二指肠的炎症发生, 加重十二指肠的放射性损伤.

总之, 本实验结果表明4.5、6.0、9.0 Gy照射损伤较轻, 无法很好模拟放射性肠损伤临床症状, 12.0、13.5、15.0 Gy照射组体质量下降、健康评分下降、稀便、食水量减少等情况与临床较为吻合, 细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的高表达及病理学改变与临床放射性十二指肠炎相似, 但13.5、15.0 Gy组小鼠存活差, 死亡率高, 且炎性因子升高与12.0 Gy组相比并无优势, 不能为实验研究提供模型. 选择12.0 Gy剂量组造模, 既出现放射性十二指肠炎, 且小鼠死亡率不高和临床相似, 符合模型成功的要求, 能够为下一步实验研究提供较好的动物模型.

4 参考文献

- 1 蔡晶, 谢国栋, 吴志军, 季雪梅, 储开岳. 立体定向适形放射治疗胰腺癌18例分析. 中华放射肿瘤学杂志 2003; 12: 268-269
- 2 周桂霞, 陈国雄, 崔书祥, 赵卫东, 杨东. 体部立体定向适形放射治疗胰腺癌的临床探讨. 中华肝胆外科杂志 2001; 7: 415-417
- 3 夏廷毅, 申文江, 王绿化. 头、体 γ -刀的临床应用. 放疗学新技术进展. 北京: 北京科学技术出版社, 2003: 65-77
- 4 夏廷毅, 孙庆选, 于涌, 常冬妹, 崔纪青. 体部 γ -刀治疗52例胰腺癌的疗效分析. 中华肝胆外科杂志 2006; 2: 86-88
- 5 夏廷毅. X(γ)线立体定向放射治疗临床应用规范和放疗进展. 中国癌症杂志 2006; 16: 454-458
- 6 殷蔚伯, 谷铎之. 肿瘤放射治疗学. 第3版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2002: 776-781
- 7 Van Landeghem L, Blue RE, Dehmer JJ, Henning SJ, Helmrath MA, Lund PK. Localized intestinal radiation and liquid diet enhance survival and permit evaluation of long-term intestinal responses to high dose radiation in mice. *PLoS One* 2012; 7: e51310 [PMID: 23236468 DOI: 10.1371/journal.

- pone.0051310]
- 8 Carr KE, Hume SP, Nelson AC, O'Shea O, Hazard RA, McCullough JS. Morphological profiles of neutron and X-irradiated small intestine. *J Radiat Res* 1996; 37: 38-48 [PMID: 8699395 DOI: 10.1269/jrr.37.38]
 - 9 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]
 - 10 Guzman-Stein G, Bonsack M, Liberty J, Delaney JP. Abdominal radiation causes bacterial translocation. *J Surg Res* 1989; 46: 104-107 [PMID: 2918713]
 - 11 Leadon SA. Repair of DNA Damage Produced by Ionizing Radiation: A Minireview. *Semin Radiat Oncol* 1996; 6: 295-305 [PMID: 10717187]
 - 12 敖睿. 放射性肠炎发生机理最新研究进展. 使用医院临床杂志 2009; 6: 112-114
 - 13 Gremy O, Benderitter M, Linard C. Acute and persisting Th2-like immune response after fractionated colorectal gamma-irradiation. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7075-7085 [PMID: 19084914 DOI: 10.3748/wjg.14.7075]
 - 14 Crawford PA, Gordon JL. Microbial regulation of intestinal radiosensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13254-13259 [PMID: 16129828 DOI: 10.1073/pnas.0506706102]
 - 15 赵元珍, 高春芳. 谷氨酰胺全肠外营养对急性放射性肠炎大鼠消化道营养作用的研究. 中华放射医学与防护杂志 2004; 24: 428-430
 - 16 董光龙, 刘晓玲, 王为忠. 腹部辐射致肠粘膜屏障损伤模型的建立. 中国临床营养杂志 2000; 8: 154-156
 - 17 Abbasoglu SD, Erbil Y, Eren T, Giriş M, Barbaros U, Yücel R, Olgaç V, Uysal M, Tokur G. The effect of heme oxygenase-1 induction by octreotide on radiation enteritis. *Peptides* 2006; 27: 1570-1576 [PMID: 16375990]
 - 18 Raguso CA, Leverve X, Pichard C. Protective effects of recombinant growth hormone on intestinal mucosa in rats receiving abdominal radiotherapy. *Clin Nutr* 2002; 21: 487-490 [PMID: 12468368]
 - 19 刘颖, 金宏, 许志勤, 王先远, 南文考. 谷氨酰胺对电离辐射损伤小鼠小肠保护作用研究. 营养学报 2004; 26: 426-429
 - 20 Kawashima R, Kawamura YI, Kato R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Dohi T. IL-13 receptor alpha2 promotes epithelial cell regeneration from radiation-induced small intestinal injury in mice. *Gastroenterology* 2006; 131: 130-141 [PMID: 16831597]
 - 21 Brook I, Tom SP, Ledney GD. Quinolone and glycopeptide therapy for infection in mouse following exposure to mixed-field neutron-gamma-photon radiation. *Int J Radiat Biol* 1993; 64: 771-777 [PMID: 7903345 DOI: 10.1080/09553009314552021]
 - 22 Williams JP, Brown SL, Georges GE, Hauer-Jensen M, Hill RP, Huser AK, Kirsch DG, Macvittie TJ, Mason KA, Medhora MM, Moulder JE, Okunieff P, Otterson MF, Robbins ME, Smathers JB, McBride WH. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure. *Radiat Res* 2010; 173: 557-578 [PMID: 20334528]
 - 23 莱永萍, 程天民, 刘贤华. 放射损伤及放烧复合伤对小肠上皮损害的量效研究. 第三军医大学学报 1994; 16: 313-315
 - 24 Mollà M, Gironella M, Salas A, Closa D, Biete A, Gimeno M, Coronel P, Piqué JM, Panés J. Protective effect of superoxide dismutase in radiation-induced intestinal inflammation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 61: 1159-1166 [PMID: 15752897 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2004.11.010]
 - 25 张青, 徐剑铖, 毛宝龄, 钱桂生, 陈正堂, 李琦. 内毒素致伤大鼠肺组织 TNF- α , IL-6的mRNA表达及NF-IL6活化研究. 中国危重病急救医学 2001; 13: 523-526
 - 26 Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice. *Prog Lipid Res* 2000; 39: 41-82 [PMID: 10729607]
 - 27 Indaram AV, Visvalingam V, Locke M, Bank S. Mucosal cytokine production in radiation-induced proctosigmoiditis compared with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1221-1225 [PMID: 10811331]
 - 28 Kim K, McBride WH. Modifying radiation damage. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1352-1365 [PMID: 20583981]
 - 29 吴焕淦, 刘慧荣, 施茵, 杨文英, 李双, 张琳珊, 华雪桂. 隔药灸对溃疡性结肠炎大鼠结肠IL-1 β , IGF-1表达影响的研究. 江西中医学院学报 2004; 16: 56-60
 - 30 宋敏. 丁酸钠与5-氨基水杨酸联合用药对TNBS诱发大鼠结肠炎三叶因子3, 白介素1 β 及核因子 κ B表达的影响. 武汉大学, 2005: 14-18
 - 31 简燕婷, 王继德, 麦国丰, 张亚历, 赖卓胜. 姜黄素对模型大鼠肠粘膜炎症因子的调控. 第一军医大学学报 2004; 24: 1353-1359
 - 32 孙永年, 龚守军, 黄祝青. 苦参素对慢性乙型肝炎血清肿瘤坏死因子- α , 白细胞介素-6, 白细胞介素-8的影响. 中国综合临床 2003; 19: 908-909
 - 33 Toward R, Montandon S, Walton G, Gibson GR. Effect of prebiotics on the human gut microbiota of elderly persons. *Gut Microbes* 2012; 3: 57-60 [PMID: 22555548]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效

蒋晓芸, 戎兰, 宋艳艳, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕

蒋晓芸, 戎兰, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕, 复旦大学附属华山医院消化科 上海市200040

宋艳艳, 上海交通大学医学院生物统计学教研室 上海市200025

蒋晓芸, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的研究.

作者贡献分布: 此课题由蒋晓芸、戎兰及蒋义斌设计; 钟良、孙大裕参与课题指导; 研究过程由蒋晓芸操作完成; 数据分析由宋艳艳完成; 本论文写作由蒋晓芸完成.

通讯作者: 戎兰, 副主任医师, 200040, 上海市乌鲁木齐中路12号, 复旦大学医学院附属华山医院消化内科.

ronglr@medmail.com.cn

电话: 021-52888476

收稿日期: 2012-12-03 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice

Xiao-Yun Jiang, Lan Rong, Yan-Yan Song, Yi-Bin Jiang, Liang Zhong, Da-Yu Sun

Xiao-Yun Jiang, Lan Rong, Yi-Bin Jiang, Liang Zhong, Da-Yu Sun, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital, Shanghai 200040, China

Yan-Yan Song, Department of Biostatistics, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Rong Lan, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital, 12 Urumi Middle Road, Shanghai 200040, China. ronglr@medmail.com.cn

Received: 2012-12-03 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To observe whether Salvianolate Injection has a therapeutic effect on colitis and to discuss the possible mechanisms involved.

METHODS: 50 Balb/c mice were randomly divided into a control group, a model group, and low-, medium-, and high-dose interventional groups. Colitis was induced by oral administration of 5% DSS for 7 d. Indices were determined 14 d after colitis induction.

RESULTS: Treatment with Salvianolate Injection could reduce colonic inflammation induced with DSS ($P < 0.01$). Immunohistochemistry analysis showed that treatment with different doses of Salvianolate Injection significantly re-

duced CD40/CD40L protein expression compared to the model group (CD40: $20.50 \mu\text{m}^2 \pm 1.517 \mu\text{m}^2$, $15.50 \mu\text{m}^2 \pm 4.680 \mu\text{m}^2$, $13.33 \mu\text{m}^2 \pm 0.816 \mu\text{m}^2$ vs $30.33 \mu\text{m}^2 \pm 4.227 \mu\text{m}^2$, all $P < 0.01$; CD40L: $23.17 \mu\text{m}^2 \pm 2.714 \mu\text{m}^2$, $15.50 \mu\text{m}^2 \pm 2.739 \mu\text{m}^2$, $14.17 \mu\text{m}^2 \pm 4.262 \mu\text{m}^2$ vs $27.83 \mu\text{m}^2 \pm 3.710 \mu\text{m}^2$, all $P < 0.01$). RT-PCR analysis showed that treatment with different doses of Salvianolate Injection significantly reduced CD40/CD40L mRNA expression compared to the model group (CD40: $1.20\% \pm 0.30\%$, $0.78\% \pm 0.26\%$, $0.41\% \pm 0.15\%$ vs $1.78\% \pm 0.41\%$, all $P < 0.01$; CD40L: $2.59\% \pm 1.68\%$, $1.75\% \pm 0.64\%$, $1.11\% \pm 0.53\%$ vs $3.54\% \pm 0.85\%$, all $P < 0.01$). The concentration of sCD40L in medium was decreased in the medium- and high-dose interventional groups compared to the model group ($2.12 \text{ ng/mL} \pm 0.18 \text{ ng/mL}$, $1.96 \text{ ng/mL} \pm 0.12 \text{ ng/mL}$ vs $5.62 \text{ ng/mL} \pm 0.36 \text{ ng/mL}$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Salvianolate Injection can exert a therapeutic effect on colitis in mice possibly by reducing sCD40L and thus restraining the CD40/CD40L pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colitis; Salvianolate; Mice; sCD40L; CD40/CD40L

Jiang XY, Rong L, Song YY, Jiang YB, Zhong L, Sun DY. Efficacy of Salvianolate Injection in the treatment of experimental colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2275-2281 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2275>

摘要

目的: 观察葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)对炎症性结肠炎是否存在治疗作用, 并讨论其可能的机制.

方法: 选用♂ Balb/c小鼠50只随机分为对照组、模型组、丹参多酚酸盐低、中、高剂量干预组, 饮用5%DSS造模, 14 d后检测相应的指标.

■背景资料

我国炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病率日高, 对安全有效的治疗药物需求日盛. 血小板及其活化产物如PAF、CD40L广泛参与了炎症反应, 血小板活化在IBD发病中的所起的作用日益得到重视. 基于临床工作中的发现及各类文献的总结, 我们选用了丹参多酚酸盐这一安全有效的药物, 试图以抗血小板活化为切入点, 对结肠炎进行实验性治疗.

■同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

■ 研发前沿

目前炎症性肠病的研究主要集中在发病机制及相关靶点药物治疗, 白介素-23(interleukin-23, IL-23)、Toll样受体、炎症小体等各种炎症通路相关的蛋白及其拮抗剂都是药物研究的热点。

结果: 与模型组比较, 各药物干预组的肠道炎症明显减轻($P<0.01$)。肠黏膜组织免疫组织化学显示模型组肠黏膜CD40/CD40L阳性面积表达明显升高(分别为 $30.33 \mu\text{m}^2 \pm 4.227 \mu\text{m}^2$; $27.83 \mu\text{m}^2 \pm 3.710 \mu\text{m}^2$), 而低、中、高剂量各干预组CD40/CD40L显著下调(分别为 $20.50 \mu\text{m}^2 \pm 1.517 \mu\text{m}^2$, $15.50 \mu\text{m}^2 \pm 4.680 \mu\text{m}^2$, $13.33 \mu\text{m}^2 \pm 0.816 \mu\text{m}^2$; $23.17 \mu\text{m}^2 \pm 2.714 \mu\text{m}^2$, $15.50 \mu\text{m}^2 \pm 2.739 \mu\text{m}^2$, $14.17 \mu\text{m}^2 \pm 4.262 \mu\text{m}^2$), 具有统计学意义($P<0.01$)。模型组肠黏膜CD40 mRNA表达升高($1.78\% \pm 0.41\%$), 低、中、高各剂量干预组CD40 mRNA明显下调, 分别为 $1.20\% \pm 0.30\%$, $0.78\% \pm 0.26\%$, $0.41\% \pm 0.15\%$ ($P<0.01$)。模型组肠黏膜CD40L mRNA表达亦明显升高($3.54\% \pm 0.85\%$), 中、高剂量组可见其下调, 分别为 $2.59\% \pm 1.68\%$, $1.75\% \pm 0.64\%$, $1.11\% \pm 0.53\%$ ($P<0.01$)。模型组小鼠可溶性CD40L(sCD40L)高于其他各组($5.62 \text{ ng/mL} \pm 0.36 \text{ ng/mL}$), 中、高剂量组与模型组比较sCD40L下降, 分别为 $2.12 \text{ ng/mL} \pm 0.18 \text{ ng/mL}$, $1.96 \text{ ng/mL} \pm 0.12 \text{ ng/mL}$ ($P<0.01$)。

结论: 丹参多酚酸盐对于小鼠实验性结肠炎具有一定的治疗作用, 可能是通过下调sCD40L, 抑制CD40/CD40炎症通路达到治疗目的。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 结肠炎; 丹参多酚酸盐; 小鼠; sCD40L; CD40/CD40L

核心提示: 丹参多酚酸盐对于小鼠实验性结肠炎具有一定的治疗作用, 可能是通过下调sCD40L, 抑制CD40/CD40L炎症通路达到治疗目的。

蒋晓芸, 戎兰, 宋艳艳, 蒋义斌, 钟良, 孙大裕. 丹参多酚酸盐注射液治疗小鼠实验性结肠炎的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2275-2281 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2275>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其发病机制及病因至今未明, 临床治疗存在不少困难。欧洲的一项流行病学调查显示UC的年发病率为11.2/100000, CD为5.6/100000^[1]。而国内尚无前瞻性的IBD流行病学调查, 但有研究显示, 我国IBD发病逐年增高, 且总病死率高于欧洲报道, 对整个社会及患者

家庭造成了沉重的负担。目前常用的药物主要为氨基水杨酸类、糖皮质激素类、免疫抑制剂以及生物制剂, 这些药物往往存在不可避免的不良反应。本文首次采用丹参多酚酸盐治疗小鼠实验性结肠炎, 观察其疗效, 并对其可能作用机制进行初步研究。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ Balb/c小鼠50只, 清洁级, 购自国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心, 6-8周龄, 平均体质量22 g。分子量5000 DSS(右旋葡聚糖硫酸钠), Sigma公司出品, 批号: BCB6951V。丹参多酚酸盐注射液由上海绿谷制药有限公司提供, 批号: 09118(丹参乙酸镁含量99.04%)。可溶性白细胞分化抗原40配体(sCD40L)ELISA试剂盒购自R&D公司; CD40一抗由SANTA CRUZ公司出品; CD40L一抗由Cell Signaling Technology公司出品; 即用型Rb/M多用途二抗由丹麦 DAKO公司出品; SYBRGreen PCR试剂盒购自上海达为生物科技公司; TRIzol由Invitrogen公司出品。引物设计使用Primer 5.0软件由Invitrogen公司合成。CD40上游引物atggagatggccactgagac, 下游引物ccgggactttaaccacaga, 扩增片段长度180 bp。CD40L上游引物taccaccaaggcacatagag, 下游引物gaatcagtgggttgctgtt, 扩增片段长度110 bp。

XW-80A旋涡振荡器(上海青浦沪西仪器厂), K10CD干式恒温器(杭州蓝焰科技有限公司), F6/10手持式匀浆机(德国FLUKO), BDC-280e冷藏冰箱(伊莱克斯, 湖南长沙), 1-15K 3K15低温冷冻离心机(美国Sigma公司), TYPE B2生物安全柜(美国Sigma公司), ZXC型紫外杀毒车(上海跃进医用光学器械厂), ABI-7500 Real-time检测仪(美国ABI公司), Olympus BH2显微镜, Nikon 4500数码相机。

1.2 方法

1.2.1 造模: 每日制备5%DSS溶液, 供对照组外所有小鼠自由饮用, 不再予其他饮水, 7 d可造成急性结肠炎模型。

1.2.2 小鼠分组及处理: 50只小鼠随机分为对照组、模型组、丹参多酚酸盐低、中、高剂量干预组, 每组10只。正常对照组: 每天予正常饮水。模型组: 造模同时予生理盐水腹腔注射2 wk。低剂量干预组: 造模同时予丹参多酚酸盐腹腔注射60 mg/(kg·d) 2 wk。中剂量干预组: 造模同时予丹参多酚酸盐腹腔注射120 mg/(kg·d) 2 wk。高剂量干预组: 造模同时与丹参多酚酸盐腹腔注

表 1 肠黏膜组织CD40/CD40L阳性表达面积 ($n = 10, \mu\text{m}^2$)

分组	CD40	CD40L
对照组	9.50 ± 3.834	8.75 ± 1.500
模型组	30.33 ± 4.227	27.83 ± 3.710
低剂量组	20.50 ± 1.517 ^{ac}	23.17 ± 2.714 ^{ac}
中剂量组	15.50 ± 4.680 ^{ac}	15.50 ± 2.739 ^{ac}
高剂量组	13.33 ± 0.816 ^{ac}	14.17 ± 4.262 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$ 中/高剂量组 vs 低剂量组。表 2 肠黏膜CD40/CD40L mRNA表达 ($n = 10, \%$)

分组	CD40	CD40L
对照组	0.34 ± 0.14	0.72 ± 0.24
模型组	1.78 ± 0.41	3.54 ± 0.85
低剂量组	1.20 ± 0.30 ^{ac}	2.59 ± 0.68
中剂量组	0.78 ± 0.26 ^{ac}	1.75 ± 0.64 ^{ac}
高剂量组	0.41 ± 0.15 ^{ac}	1.11 ± 0.53 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$ vs 低剂量组。

■ 相关报道

文献显示丹参多酚酸盐可使IL-1、IL-6、PAF、TNF- α 、IL-1 β 等水平显著下降,起到保护机体作用。丹酚酸B可能通过抑制NF- κ B信号通路,显著降低细胞IL-1 β 、TNF- α 、NO水平,并可抑制DC细胞成熟(抑制CD40等细胞膜表面蛋白的表达)。

射240 mg/(kg·d) 2 wk。处死前称质量,眼球采血,3000 r/min离心,吸取血清后分装-20℃深低温冰箱冻存备用。开腹,取肛门1 cm处以上病变明显处组织标本(约5 mm×10 mm),部分予40 g/L中性甲醛固定,石蜡包埋,切片HE染色观察肠黏膜形态并做免疫组织化学染色。部分组织深低温冰箱冻存备RT-PCR检测。

1.2.3 观察:造模过程中观察小鼠便血情况。

1.2.4 组织病理学评分:HE染色切片观察肠黏膜形态。评分标准按Coopers HS组织评分,前3项评分相加后与第4项的乘积为组织学评分。

1.2.5 CD40/CD40L免疫组织化学:EnVision法,取组织蜡块按说明书操作。镜下观察,细胞核紫蓝色,阳性呈棕黄色。测量免疫组织化学图象中阳性区域面积和阳性比率以及吸光度值(A值)。每张切片至少分析3个视野,每组数据至少10个。CD40等阳性表达主要表现为细胞浆呈棕黄色反应,由医学图象分析软件(上海求为生物科技有限公司MIQAS医学图象定量分析系统、医学图象定量分析软件)进行测量计算。

1.2.6 CD40/CD40L实时定量PCR:取深低温冰箱冻存组织,RT-PCR检测按照说明书操作,数据采用仪器自带软件ABI Prism 7500 SDS Software分析。

1.2.7 血清sCD40L:取深低温冰箱冻存备用血清,按说明书操作,根据各A值,使用计算机软件,绘制出标准曲线,计算样品含量。

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统计分析。计量资料若为正态分布且方差齐性,进行t检验或方差分析,否则进行Kruskal-Wallis秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 症状 造模5 d后,模型组、低剂量组小鼠广泛肛门部位有血迹;中剂量与高剂量小鼠部分肛门部位有血迹,正常组无明显异常。10 d后除模

型组、低剂量组小鼠外,其余各组小鼠肛门部位血迹逐渐消失。

2.2 体质量 对照组、模型组、各干预组小鼠平均体重分别为26.90 g±0.9944 g、24.800 g±1.6193 g、25.500 g±1.2693 g、25.500 g±1.0801 g、25.500 g±1.0801 g。各组体质量均无统计学差异。

2.3 肠黏膜炎症程度 根据各组病理评分进行统计,正常组、模型组、低、中、高剂量组秩均值分别为3.92、22.67、20.25、20.00、10.67,模型组炎症最重,各干预组因剂量不同炎症程度递减,肠道炎症情况如图1。

2.4 各组小鼠肠黏膜组织CD40/CD40L阳性表达面积 模型组肠黏膜CD40/CD40L表达明显升高,而各干预组CD40/CD40L显著下调,具有统计学意义($P < 0.01$)。各剂量CD40/CD40L下调情况存在一定剂量依赖关系(图2,表1)。

2.5 各组小鼠肠黏膜CD40/CD40L mRNA表达 模型组肠黏膜CD40 mRNA表达明显升高,各干预组CD40 mRNA则明显下调($P < 0.01$),又以高剂量组效果最为明显。模型组肠黏膜CD40L mRNA表达亦明显升高,中、高剂量组可见其下调($P < 0.01$);低剂量组与模型相比无统计学意义($P > 0.05$)。其中又以高剂量组效果更为明显(与对照组比较 $P > 0.05$,表2)。

2.6 小鼠血清sCD40L水平 模型组小鼠sCD40L高于其他各组,统计学显示中、高剂量组与模型组比较sCD40L下降($P < 0.01$);组间比较无统计学意义($P > 0.05$);与低剂量相比 $P < 0.05$;低剂量组与模型组比较 $P > 0.05$ (表3)。

3 讨论

丹参乙酸镁(即丹酚酸B镁盐)为主要成分的丹参多酚酸盐注射液是中国第一个拥有人体药代动力学参数的中医药制剂,是迄今各种丹参制剂

■创新盘点

丹参多酚酸主要应用于心脑血管疾病领域,用于IBD的治疗以往没有报道,而从血小板功能异常方面入手治疗IBD也是全新的尝试。

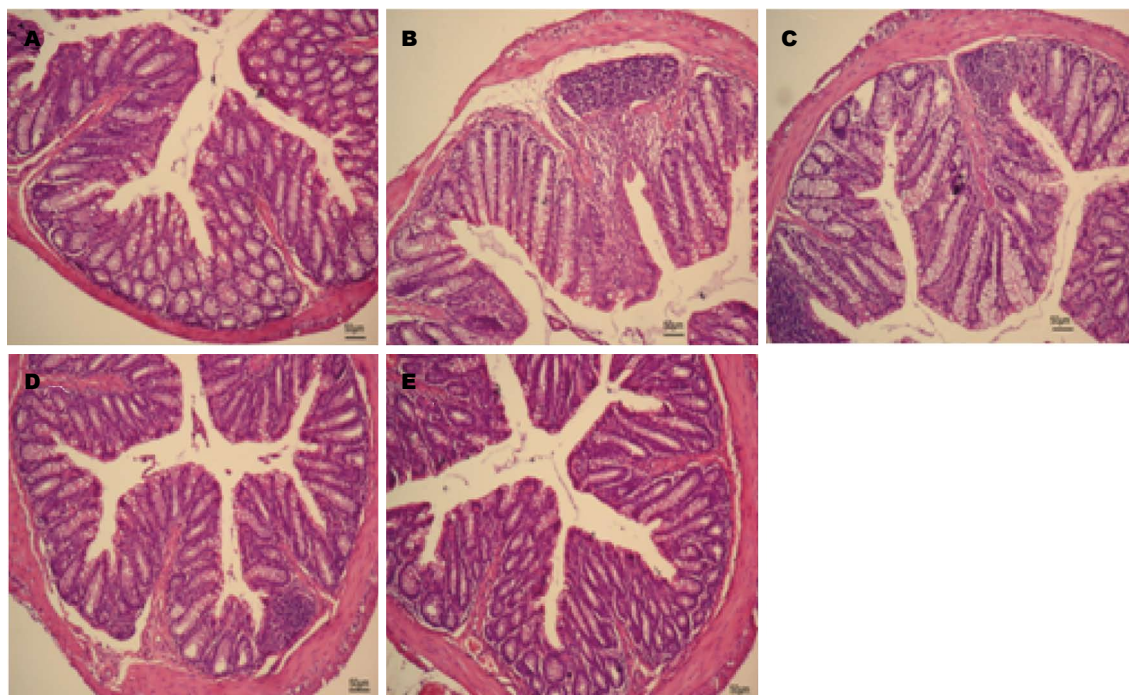


图1 各组小鼠肠黏膜病理(×100). A: 对照组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 中剂量组; E: 高剂量组。

表3 小鼠血清sCD40L ($n = 10$, ng/mL)

分组	sCD40L
对照组	0.39 ± 0.03
模型组	5.62 ± 0.36
低剂量组	3.10 ± 1.12
中剂量组	2.12 ± 0.18^{ac}
高剂量组	1.96 ± 0.12^{ac}

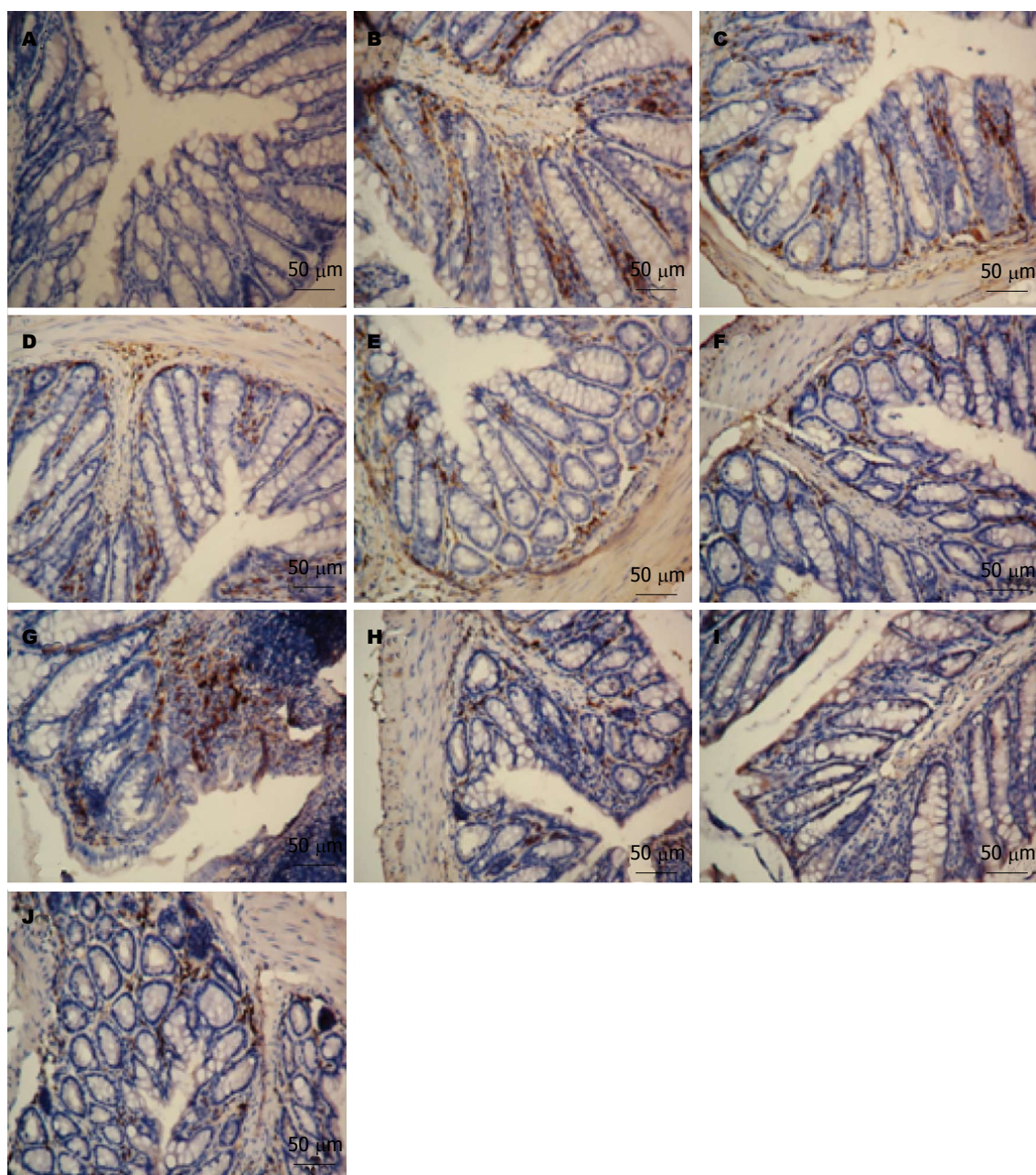
$^aP < 0.05$ vs 模型组; $^cP < 0.05$ vs 低剂量组。

中含有有效成分最明确、含量高的一个品种,具有抗血小板聚集、抗炎、清除自由基等多种作用。目前尚没有应用于IBD治疗的报道。

长期临床研究表明IBD患者的外周血小板计数增加且聚集反应增强。我们在临床工作中收集炎症性肠病患者资料后亦曾报道过外周血小板计数的增多、异常活化、平均体积的变化与疾病活动及严重程度存在一定的关系^[1-3]。有观点认为血小板的变化可作用观察疾病活动的重要指标之一,而且国内外均有类似报道^[4-11]。

血小板活化后能释放多种炎症介质,促使炎症细胞聚集、趋化。或通过调节其他炎症细胞活性,释放更多的炎症因子通过各自的信号通路参与IBD肠黏膜的炎症反应^[12],其中CD40/CD40L系统与血小板的联系较为密切。以往认为CD40/CD40L主要由B细胞、CD4⁺ T淋

巴细胞、内皮细胞等表达,但血小板表面也有CD40表达,活化的血小板还可表达CD40L^[13,14]。CD40L由胞质内区、跨膜疏水区 and 胞质外区组成,其胞质外区214个氨基酸可形成可溶性蛋白,即可溶性CD40L(sCD40L)。sCD40L是CD40L在血清中的活性形式,是反映血小板活化的主要标志之一,IBD患者的血浆sCD40L可以升高。有文献认为血循环中95%以上的sCD40L来源于血小板,血小板可认为是与单核细胞、T细胞同等重要的sCD40L提供者^[15-20]。表达CD40L的血小板以及从血小板脱落至血浆中的sCD40L可与CD40⁺的内皮细胞和T细胞等结合,而文献显示活动期IBD肠黏膜中可见黏膜和黏膜下的单核细胞,内皮细胞及肠间质细胞的CD40染色均为强阳性且广泛分布^[21-24]。两者结合的协同刺激可使更多细胞因子和化学因子产生,上调细胞黏附分子,导致炎症长期存在^[21,24]。实验中发现模型组血清sCD40L明显高于其他组,反映了结肠炎小鼠血小板处于异常活化状态,而中高剂量药物干预组sCD40L明显下降,提示丹参多酚酸盐下调了血小板活化相关的sCD40L高表达,说明其对肠道炎症的血小板活化可能具有抑制作用。同时,模型组小鼠无论从消化道出血症状还是镜下肠道炎症程度来说都最为严重,免疫组织化学染色CD40L表达明显升高,CD40表达亦明显升高,测定两者mRNA含量同样明显升



■应用要点
药理实验证明丹参多酚酸盐可减少VCAM-1、TNF- α 、ICAM-1、IL-1、IL-6、TGF- β 1、ET、VEGF等释放而抑制炎症反应。而这些炎症因子也参与了IBD的发病过程。本研究将其应用于实验性结肠炎的治疗, 或能开发新的临床适应症。

图 2 肠黏膜组织CD40/CD40L表达: A: CD40对照组; B: CD40模型组; C: CD40低剂量组; D: CD40中剂量组; E: CD40高剂量组; F: CD40L对照组; G: CD40L模型组; H、I: CD40L中剂量组; J: CD40L高剂量。

高。药物干预组与模型组比较存在显著差异, 药物干预组(特别是中高剂量组)的肠道炎症减轻, CD40/CD40L表达下降, 验证了其他研究报道的CD40/CD40L系统与肠道炎症程度的关系, 并提示丹参多酚酸盐的治疗有效。

丹参多酚酸盐已知的主要药理作用是抗血小板聚集、抑制血小板活化、抗血栓形成。本实验发现丹参多酚酸盐可下调与血小板活化相关的sCD40L, 抑制CD40/CD40L炎症通路。鉴于以上情况, 且药物干预组小鼠肠道炎症在未使用其他任何已知对结肠炎有治疗作用的药物的

前提下出现好转, 是否能大胆推测丹参多酚酸盐可能通过抑制血小板的活化对肠道炎症起到治疗作用? 有研究发现丹酚酸B可以抑制单核细胞来源的树突状细胞表达CD40^[25], 因此还需考虑丹参多酚酸盐可直接抑制单核细胞等表达CD40/CD40L起到治疗作用, 但是目前未见丹参多酚酸具有类似作用的报道。本实验只是观察到上述现象, 而丹参多酚酸治疗肠炎的作用机制尚不完全明确, 有待完善。

以丹参乙酸镁为主要成分的丹参多酚酸盐注射液是迄今各种丹参制剂中含有效成分最明

■同行评价

本文是基于前期临床基础的实验研究,为IBD的治疗提供一个可能的新治疗药物进行了初步研究,具有一定参考价值。

确、含量高的一个品种,可下调多个血清炎症因子水平,疗效确切。临床应用至今尚无直接导致出血的报道。研究观察40例肝硬化失代偿患者应用该药物后认为不仅没有增加出血危险反而可改善出凝血功能^[26]。另有研究表明丹参多酚酸盐在有效抗血栓形成时不影响正常凝血功能,不引起出血^[27],有高度的安全性,但尚无应用于治疗IBD的报道。由于DSS诱导实验性结肠炎的动物模型在临床表现和病理改变上更接近于人类UC,我们观察到整个研究过程中未发现动物因药物导致出血加重,相反能减轻出血症状,证明了其安全性。虽然IBD的预防性抗凝治疗尚存争议,已有不少研究将肝素用于治疗严重或合并血栓的UC,且取得良好疗效,且肝素用于治疗UC的安全性还是公认的^[28-31]。相对于肝素,丹参多酚酸盐的安全性自然更为可靠。

本实验希望能拓宽该药的临床适应症,并为IBD新的治疗策略提供新的线索。当然,关于该药物的最佳剂量和更确切的作用机制还有待于更多的实验加以深入研究。

4 参考文献

- 戎兰, 蒋晓芸, 乔健, 蒋义斌, 钟良. 炎症性肠病患者血小板活化和血小板聚集力的变化. 中华消化杂志 2009; 29: 264-266
- 蒋晓芸, 戎兰, 宋艳艳, 钟良, 蒋义斌. 溃疡性结肠炎患者血小板功能变化的观察. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 59-61
- 刘春燕, 戎兰, 蒋晓芸. 60例炎症性肠病患者血小板检测的临床意义. 临床内科杂志 2007; 24: 713
- 陈隆典, 杨英. 炎症性肠病疾病活动程度与血小板参数的相关性分析. 中华消化杂志 2006; 26: 771-773
- 何斌, 孔超美, 张振玉. 血小板激活与炎症性肠病. 医学综述 2008; 14: 392-395
- 胡正华, 吴胡明. 血小板参数与溃疡性结肠炎活动性的关系. 浙江实用医学 2009; 14: 209
- 许丽莉, 王吉耀. 活动期溃疡性结肠炎患者体内血小板激活状态的评价. 中华消化杂志 2002; 22: 285-289
- 张星星, 叶柏, 沈洪. 溃疡性结肠炎严重程度与血小板计数的相关性分析. 中国现代医药杂志 2009; 11: 16-18
- 陶继勇, 寇继光, 袁岸龙. 溃疡性结肠炎与血小板的相关性探讨. 中国医疗前沿 2009; 4: 26
- Yüksel O, Helvacı K, Başar O, Köklü S, Caner S, Helvacı N, Abaylı E, Altıparmak E. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets* 2009; 20: 277-281 [PMID: 19459134 DOI: 10.1080/09537100902856781]
- Öztürk ZA, Dag MS, Kuyumcu ME, Cam H, Yesil Y, Yılmaz N, Aydınli M, Kadayıfci A, Kepekci Y. Could platelet indices be new biomarkers for inflammatory bowel diseases? *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 334-341 [PMID: 23426536]
- 章荣华. 炎症性肠病的免疫学研究进展. 国外医学免疫学分册 2000; 23: 59-61
- Schönbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 4-43 [PMID: 11229815]
- Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Stefanadis C. The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 669-677 [PMID: 19679244 DOI: 10.1016/j.jacc.2009.03.076]
- Ludwiczek O, Kaser A, Tilg H. Plasma levels of soluble CD40 ligand are elevated in inflammatory bowel diseases. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 142-147 [PMID: 12548417]
- 谢芳. sCD40L在炎症性肠病中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2009; 17: 737-739
- Danese S, Katz JA, Saibeni S, Papa A, Gasbarrini A, Vecchi M, Fiocchi C. Activated platelets are the source of elevated levels of soluble CD40 ligand in the circulation of inflammatory bowel disease patients. *Gut* 2003; 52: 1435-1441 [PMID: 12970136]
- Hermann A, Rauch BH, Braun M, Schrör K, Weber AA. Platelet CD40 ligand (CD40L)--subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel. *Platelets* 2001; 12: 74-82 [PMID: 11297035]
- Nagasawa M, Zhu Y, Isoda T, Tomizawa D, Itoh S, Kajiwarra M, Morio T, Nonoyama S, Shimizu N, Mizutani S. Analysis of serum soluble CD40 ligand (sCD40L) in the patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: platelet is a major source of serum sCD40L. *Eur J Haematol* 2005; 74: 54-60 [PMID: 15613107]
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003; 348: 1104-1111 [PMID: 12646667]
- 刘隽, 李晓红. CD28: CTLA4/B7及CD40/CD40L在炎症性肠病发病机制中的作用. 国际消化病杂志 2006; 26: 377-379
- Polese L, Angriman I, Cecchetto A, Norberto L, Scarpa M, Ruffolo C, Barollo M, Sommariva A, D'Amico DF. The role of CD40 in ulcerative colitis: histochemical analysis and clinical correlation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 237-241 [PMID: 11953687]
- Borcherding F, Nitschke M, Hundorfean G, Rupp J, von Smolinski D, Bieber K, van Kooten C, Lehnert H, Fellermann K, Büning J. The CD40-CD40L pathway contributes to the proinflammatory function of intestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Am J Pathol* 2010; 176: 1816-1827 [PMID: 20133813 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090461]
- 阮佼. CD40/CD40L共刺激途径与炎症性肠病研究进展. 现代医药卫生 2005; 21: 3400-3401
- Sun A, Liu H, Wang S, Shi D, Xu L, Cheng Y, Wang K, Chen K, Zou Y, Ge J. Salvianolic acid B suppresses maturation of human monocyte-derived dendritic cells by activating PPAR γ . *Br J Pharmacol* 2011; 164: 2042-2053 [PMID: 21649636]
- 彭来. 丹参多酚酸盐对失代偿期肝硬化患者凝血功能的影响. 中医药导报 2009; 15: 22-24
- Fan HY, Fu FH, Yang MY, Xu H, Zhang AH, Liu K. Antiplatelet and antithrombotic activities of salvianolic acid A. *Thromb Res* 2010; 126: e17-e22 [PMID: 20451955]
- 郑家驹. 依诺肝素治疗溃疡性结肠炎合并左腓肠肌静脉血栓1例. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 260-261
- Chande N. Prevention of venous thromboembolism in hospitalized patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 669-671 [PMID: 23385239 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31827e7a0f]

- 30 Chande N, McDonald JW, Macdonald JK, Wang JJ. Unfractionated or low-molecular weight heparin for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (10): CD006774 [PMID: 20927749 DOI: 10.1002/14651858.CD006774.pub3]
- 31 Stadnicki A. Involvement of coagulation and hemostasis in inflammatory bowel diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10: 659-669 [PMID: 22272910]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

NSAIDs相关性溃疡再出血的预防

郭淦华, 宋丰前, 王 俊, 王芳芳

■背景资料

非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是处方中用量最大的药物之一,但其引起胃肠道不良反应的报道日益增多,以并发消化性溃疡和出血最为严重,具有病情重、病死率高的特点,成为当前临床工作中一个非常棘手的问题。

郭淦华, 王芳芳, 浙江省慈溪市第三人民医院消化内科 浙江省慈溪市 315324

宋丰前, 湖南省娄底市中心医院消化内科 湖南省娄底市 417000

王 俊, 湖南省长沙市中心医院消化内科 湖南省长沙市 410004

郭淦华, 主治医师, 主要从事胃肠病学研究。

慈溪市2010年科技计划基金资助项目, No. CN2010012

作者贡献分布: 郭淦华负责研究设计, 王芳芳、宋丰前及王俊负责协调与管理, 搜集病例及论文撰写; 宋丰前负责娄底市中心医院中相关病例的搜集, 治疗及数据统计管理; 王俊负责长沙市中心医院中相关病例的搜集, 治疗及数据统计管理; 王芳芳负责慈溪市第三人民医院中病例搜集, 内镜下相关止血治疗及数据统计管理。

通讯作者: 郭淦华, 主治医师, 315324, 浙江省慈溪市周巷镇, 慈溪市第三人民医院. guoganhua1@163.com

收稿日期: 2013-05-24 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers

Gan-Hua Guo, Feng-Qian Song, Jun Wang, Fang-Fang Wang

Gan-Hua Guo, Fang-Fang Wang, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Cixi, Cixi 315324, Zhejiang Province, China

Feng-Qian Song, Department of Gastroenterology, the Loudi Central Hospital, Loudi 417000, Hunan Province, China

Jun Wang, Department of Gastroenterology, the Changsha Central Hospital, Changsha 410004, Hunan Province, China

Supported by: the 2010 Science and Technology Program of Cixi City, No. CN2010012

Correspondence to: Gan-Hua Guo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Cixi, Zouxiangzhen, Cixi 315324, Zhejiang Province, China. guoganhua1@163.com

Received: 2013-05-24 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To compare the therapeutic efficacy and safety of teprenone combined with short- versus long-term use of omeprazole in the prevention of re-bleeding after endoscopic hemostasis for NSAIDs-related ulcers.

METHODS: Patients with NSAIDs-related ulcers who underwent Monteggia liquid spraying for bleeding were randomly divided into four groups: a teprenone group ($n = 28$), an omepra-

zole group ($n = 33$), a short-term combination group ($n = 31$), and a long-term combination group ($n = 35$). The incidences of re-bleeding and adverse reactions occurring during the periods of 0-13, 14-26, 0-26 and 27-52 wk were compared among the four groups.

RESULTS: The rate of re-bleeding occurring between 0 and 13 wk was significantly higher in the teprenone group than in the other groups (all $P < 0.05$), and the differences were not statistically significant between the other three groups (all $P > 0.05$). During the periods between 14 and 26 weeks and between 27 and 52 wk, there were no statistically significant differences in the rates of re-bleeding between the four groups (all $P > 0.05$). The incidences of adverse reactions showed no significant differences between the four groups during the period of the first 26 weeks (all $P > 0.05$) or between the omeprazole group and long-term combination group during the period between 27 and 52 wk ($P > 0.05$), but were significantly higher in the omeprazole group and long-term combination group than in the short-term combination group (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Teprenone in combination with short-term use of omeprazole has comparable efficacy to long-term use of omeprazole but is associated with significantly less adverse reactions in preventing the occurrence of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Non-steroid anti-inflammatory drugs; Teprenone; Omeprazole; Peptic ulcer; Upper gastrointestinal hemorrhage

Guo GH, Song FQ, Wang J, Wang FF. Strategies for prevention of re-bleeding after NSAIDs-related ulcers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2282-2288
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2282.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2282>

摘要

目的: 分别比较经内镜下止血后替普瑞酮联合

■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

短期与长期应用奥美拉唑的抑酸疗法对预防非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关性溃疡再出血的疗效和安全性。

方法: 对因NSAIDs致溃疡出血的患者经内镜下止血后, 随机分为替普瑞酮组(28例)、奥美拉唑组(33例)、短期联合组(31例)、长期联合组(35例), 比较4组患者在第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周期间再出血和不良反应的发生率。

结果: 4组患者再出血发生人数, 经比较在第0-13周替普瑞酮组高于其他3组($P<0.05$), 而后3组间差异相仿($P>0.05$); 第14-26周各组间无明显差异($P>0.05$); 第27-52周期间各组间差异相仿($P>0.05$)。4组患者发生不良反应的人数经比较第0-26周各组间差异无统计学意义($P>0.05$); 第27-52周奥美拉唑组与长期联合组间差异无统计学意义($P>0.05$), 但均高于短期联合组($P<0.05$)。

结论: 替普瑞酮联合短期应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)的方案与长期使用PPI或长期两药合用的治疗方案对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效相当, 但相关药物并发症的发生显著减少。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 非甾体抗炎药; 替普瑞酮; 奥美拉唑; 消化性溃疡; 上消化道出血

核心提示: 本研究对非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关性溃疡出血经内镜下止血治疗后, 采用替普瑞酮单用或联用奥美拉唑的方案进行对照, 分别比较短期内与较长期时间内对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效和安全性。结果发现: 替普瑞酮联合短期应用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)的方案与长期使用PPI或长期两药合用的治疗方案对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效相当, 但相关药物并发症的发生显著减少。

郭淦华, 宋丰前, 王俊, 王芳芳. NSAIDs相关性溃疡再出血的预防. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2282-2288 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2282.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2282>

0 引言

非甾体抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)具有抗炎、抗风湿、止痛、退

热和抗凝血等作用, 临床上应用广泛, 是处方中用量最大的药物之一^[1,2]。然而, NSAIDs引起胃肠不良反应的报道日益增多, 以并发消化性溃疡和出血最为严重。但NSAIDs药物本身具有镇痛及抗血小板聚集等药理特性, 其发病常难以预料, 发现并发出血时具有病情重、病死率高的特点^[3-6]。在当前临床工作中如何预防服用NSAIDs后的再出血, 已成为一个棘手问题。

目前临床对NSAIDs相关性溃疡再出血的预防以采用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)类药物为主^[7-9], 但PPI长期使用时可抑制骨髓造血功能以及加重胃黏膜萎缩^[10], 影响其在临床上的长期应用; 替普瑞酮作一胃黏膜保护剂, 具有提高黏膜的防御能力及组织修复能力^[11,12], 理论上可抑制NSAIDs相关性溃疡再出血的发生。本研究对NSAIDs相关性溃疡出血经内镜下止血治疗后, 采用替普瑞酮单用或联用奥美拉唑的方案进行对照, 分别比较短期内与较长期时间内对预防NSAIDs相关性溃疡再出血的疗效和安全性, 为临床提供一个可供选择的理想疗法, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-06门诊和住院的长期服用NSAIDs药物并发出血且符合上述入选标准的患者127例(慈溪市第三人民医院55例, 娄底市中心医院32例, 长沙市中心医院40例), 其中男72例, 年龄23-78岁, 平均53岁 \pm 7岁; 女55例, 年龄29-79岁, 平均51岁 \pm 9岁。入选标准: (1)均服用过非甾体抗炎药 ≥ 1 mo; 有呕血或黑便史; 经胃内窥镜检查有活动性出血(Forrest分级 I b-II a级); (2)基础疾病的治疗需长期服用NSAIDs类药物; (3)经胃内窥镜止血成功。排除标准: 合并有恶性肿瘤、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、经胃内窥镜止血不成功或无需长期服用NSAIDs类药物。本研究所用替普瑞酮胶囊, 商品名为施维舒, 厂家为日本卫材公司, 规格50 mg/粒; 奥美拉唑胶囊, 商品名为洛赛克, 厂家为无锡阿斯利康公司, 规格20 mg/粒; 孟氏液为本院4 wk内配制, 浓度5%。

1.2 方法

1.2.1 分组: 依照前瞻性完全随机对照研究的原则进行病例分组: 将入选患者按就诊顺序进行编号, 分别为1-127, 再从随机数字表中依次选取127个2位数的随机数与就诊顺序相对应, 再将随机数除以4, 其尾数为0编为替普瑞酮组、为1

■ 研发前沿

目前临床对NSAIDs相关性溃疡再出血的预防以采用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)类药物为主, 但PPI长期使用具有抑制骨髓造血功能以及加重胃黏膜萎缩等相关不良反应; 另一胃黏膜保护药米索前列醇的腹痛等不良反应明显而使服药依从性差。而替普瑞酮具有广谱抗溃疡作用, 主要通过激活葡萄糖胺合成酶、加速胃黏膜及胃黏液层中高分子糖蛋白的合成而起作用, 理论上具有抑制NSAIDs相关性溃疡形成的预防再出血的作用。

■相关报道

目前国内的相关报道中主要以中山大学附一医院的马师洋等较为系统和全面,但其主要集中在NSAIDs药物相关性胃黏膜损伤方面(包括胃溃疡),并指出替普瑞酮亦有不错的效果,但其对NSAIDs药物所致上消化道出血的研究中尚未有深入。在动物的研究方面,浙江省中医院的吕宾、张璐和范一宏亦发现替普瑞酮对类固醇致胃黏膜损伤具有保护和修复作用。

表 1 4组患者一般情况对照 (*n*)

分组	<i>n</i>	年龄 (岁)			性别		基础疾病		服用药物			出血程度		生化异常	
		<45	45-60	>60	男	女	冠心病	关节炎	阿斯匹林	双氯芬酸	其他	Forrest I b	Forrest II a	血常规异常	其他 (轻度)
短期联合组	31	5	12	14	17	14	12	19	12	10	9	14	17	2	2
长期联合组	35	4	11	20	16	19	13	22	10	15	10	15	20	2	3
替普瑞酮组	28	6	8	14	15	13	8	20	8	13	6	13	15	1	1
奥美拉唑组	33	6	12	15	19	14	11	22	11	12	10	12	21	2	1
χ^2 值		0.88	0.43	0.42	0.34	0.37	0.4	0.17	0.50	0.67	0.41	0.32	0.21	0.25	1.14
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

编为奥美拉唑组、为2编为短期联合组,为3编为长期联合组;依次将127例患者随机分为4组:替普瑞酮组28例,奥美拉唑组33例,短期联合组31例,长期联合组35例;短期联合组和替普瑞酮组各有1例患者失访,奥美拉唑组失访3例,长期联合组失访2例。4组患者的一般情况分布如表1。4个观察组患者间在年龄、性别、基础疾病、服用药物、经胃内窥镜观察出血的程度及血生化指标,经比较差异无统计学意义,具有可比性。

1.2.2 治疗:将NSAIDs所致溃疡再出血的患者进行内镜下止血治疗,方法为:经胃内窥镜检查孔插入治疗导管,将孟氏液喷洒于出血病变处(根据出血灶大小,病变程度,1次用量10-20 mL);将止血成功的患者,静脉应用奥美拉唑针治疗3-5 d,患者大便潜隐血(occult blood, OB)转阴后,根据随机原则将患者分为4个治疗组,方法为:给予替普瑞酮组(28例)服用替普瑞酮50 mg tid;奥美拉唑组(33例)服用奥美拉唑20 mg bid;短期联合组服用替普瑞酮50 mg tid,加用初始8 wk疗程的奥美拉唑20 mg bid;长期联合组服用替普瑞酮50 mg tid和奥美拉唑20 mg bid,共52 wk。分别观察和比较4组患者第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周期间再出血和不良反应的发生率。所有患者在首次出血停止后第2-4周内加上原量的NSAIDs进行基础疾病的治疗。

1.2.3 观察项目:分别观察第0-13、14-26周以及第0-26、27-52周的再出血率和不良反应的发生率:治疗期间每4 wk进行OB试验检测,若粪便隐血试验阳性或出现明显的呕血、黑便即行胃镜检查,其余则在第26周和第52周行胃内窥镜检查,观察各组患者胃十二指肠黏膜有无新的溃疡、出血和萎缩性胃炎的发生率。第26周和第52周各进行一次骨密度定和血、尿常规及肝、肾功能检查。另每4 wk随访观察4组患者在治疗

期间可能发生的不良反应:包括贫血、难治性腹泻、自发性骨折、骨质疏松、萎缩性胃炎、肝功能损害、黄疸以及服药后所产生的长期便秘等。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计学分析,本研究中计数资料均采用行×列表的 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 再出血的发生率 替普瑞酮组和长期联合组分别在第4、16、35周和第9、28周分别各有1例患者失访,奥美拉唑组和短期联合组分别在第7周和第23周分别有1例患者失访,均按阳性结果发生(再出血)进行统计分析。

所有经胃镜证实发生再出血的患者均不再进入后续实验,并住院进行止血治疗。第0-13周期间替普瑞酮组、奥美拉唑组、短期联合组与长期联合组患者再出血发生人数分别为9(32.1%)、3(9.1%)、3(9.7%)、4(11.4%)例,经 χ^2 检验替普瑞酮组与其他3组比较差异有统计学意义(χ^2 值分别为5.09、6.40和4.08, $P<0.05$),而后3组间经比较差异无统计学意义($P>0.05$);第14-26周期间4组患者再出血发生人数分别为2(10.5%)、4(13.3%)、2(7.1%)、3(9.7%)例,经比较各组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表2);第27-52周期间4组患者再出血发生人数分别为2(11.7%)、3(11.5%)、4(1.4%)、3(10.7%)例,经比较各组间差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

2.2 不良反应的发生 在第0-26周期间,替普瑞酮组有1例患者在第4周时不明原因无法联系而失访,有4例患者发生药物相关不良反应,分别恶心、腹痛、黄疸及皮肤瘙痒各1例,除皮肤瘙痒患者在第16周时失访,其他3例经对症处理后症状缓解;奥美拉唑组亦有4例发生药物相关不良

表 2 第0-26周再出血人数分期统计表 $n(\%)$

治疗组	第0-13周		第14-26周		χ^2 值	P值	总出血人数
	总人数	出血人数	总人数	出血人数			
替普瑞酮组	28	9(32.1)	19	2(10.5)	2.95	> 0.05	11(39.3)
奥美拉唑组	33	3(9.1) ^a	30	4(13.3)	0.13	> 0.05	7(21.2)
短期联合组	31	3(9.7) ^c	28	2(7.1)	0.12	> 0.05	5(16.1)
长期联合组	35	4(11.4) ^e	31	3(9.7)	0.05	> 0.05	7(20.0)
χ^2 值		9.87		1.12			5.13
P值		<0.05		> 0.05			> 0.05

$\chi^2 = 5.09$, ^a $P < 0.05$; $\chi^2 = 6.40$, ^c $P < 0.05$; $\chi^2 = 4.08$, ^e $P < 0.05$ vs 替普瑞酮组.

表 3 第0-52周再出血人数分期统计表 $n(\%)$

治疗组	第0-26周		第27-52周		χ^2 值	P值	总出血人数
	总人数	出血人数	总人数	出血人数			
替普瑞酮组	28	11(39.3) ^a	17	2(11.7)	3.90	<0.05	13(46.4)
奥美拉唑组	33	7(21.2)	26	3(11.5)	0.97	> 0.05	10(30.3)
短期联合组	31	5(16.1) ^a	26	4(15.4)	0.25	> 0.05	9(29.0)
长期联合组	35	7(20.0)	28	3(10.7)	1.00	> 0.05	10(28.6)
χ^2 值		5.13		0.31			0.43
P值		>0.05		>0.05			>0.05

$\chi^2 = 3.99$, ^a $P < 0.05$ vs 短期联合组.

表 4 各不良反应症状发生人数统计表 (n)

时期	治疗组	人数	腹痛	腹泻	腹胀	恶心	肝损	贫血	浅萎	其他	合计
第0-26周	替普瑞酮组	28	1	0	0	1	1	0	0	1	4
	奥美拉唑组	33	1	1	1	0	0	0	1	0	4
	短期联合组	31	0	1	0	0	0	0	0	2	3
	长期联合组	35	0	1	1	0	2	0	0	1	5
总计		127	2	3	2	1	3	0	1	4	16
第27-52周	替普瑞酮组	17	0	1	1	0	0	0	0	0	2
	奥美拉唑组	26	0	1	0	0	1	2	3	1	8
	短期联合组	26	0	0	0	0	0	0	0	2	2
	长期联合组	28	1	1	0	1	2	1	2	2	10
总计		97	1	3	1	1	3	3	5	5	22

肝损包括黄疸及ALT升高, 其他包括口干、便秘、骨质疏松.

反应, 分别为腹痛、腹泻各1例, 经治疗后症状能较快缓解; 发生慢性萎缩性胃炎1例; 1例反复腹胀患者在第7周时失访; 有3例短期联合组患者发生药物相关不良反应, 分别为腹胀、头晕各1例, 经对症处理后症状亦缓解; 1例轻微眼花、视物模糊患者在第22周时失访. 长期联合组发生5例药物不良反应, 分别为腹胀、腹泻、轻度丙氨酸

转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)升高及轻度黄疸各1例, 经对症处理后症状缓解; 1皮肤多行性红癍患者在第9周时失访(表4).

第27-52周期间替普瑞酮组1例患者于第35周失访, 为慢性腹泻, 服用蒙脱石散能缓解, 但停药后易再发, 后失访; 发生便秘腹胀1例, 经对症处理后症状缓解. 奥美拉唑组发生不良反应8

■创新盘点

通过内镜下快速止血治疗联合短期应用PPI制剂(<8 wk)及长期服用胃黏膜保护药替普瑞酮, 替代PPI等抑酸剂的长期使用, 避免因长期使用强效抑酸剂带来的药物相关性疾病, 是消化内科医生目前的一个研究方向和热点, 目前国内尚未发现别人相似的研究报道.

■应用要点

对需长期服用NSAIDs类药物而不能停药、并发生上消化道出血的患者,可先在内镜下进行快速止血治疗,对止血成功的患者可先短期(<8 wk)应用PPI制剂及替普瑞酮进行抑酸止血,再长期应用替普瑞酮预防再出血的发生。

表 5 4组患者不良反应发生人数统计表 $n(\%)$

治疗组	第0-26周		第27-52周		χ^2 值	P值	总不良反应人数
	总人数	不良反应	总人数	不良反应			
替普瑞酮组	28	4(14.3)	17	2(11.8)	0.06	>0.05	6(20.0)
奥美拉唑组	33	4(12.1)	26	8(30.8) ^a	3.12	>0.05	12(37.1) ^a
短期联合组	31	3(9.7)	26	2(7.7)	0.07	>0.05	5(64.7)
长期联合组	35	5(14.3)	28	10(35.7) ^c	3.94	<0.05	15(42.9) ^a
χ^2 值		0.41		8.17			7.22
P值		>0.05		<0.05			>0.05

^a $P<0.05$, $\chi^2 = 4.46$; ^b $P<0.05$, $\chi^2 = 6.12$ vs 短期联合组; ^c $P<0.05$, $\chi^2 = 3.36$; ^d $P<0.05$, $\chi^2 = 5.56$ vs 短期联合组。

例,分别为轻度贫血2例,黄疸、头晕失眠和骨质疏松各1例,慢性萎缩性胃炎3例。短期联合组发生2例药物不良反应,为皮肤瘙痒和口干乏力各1例。长期联合组发生10例药物不良反应,分别为轻度贫血、反复腹痛、腹泻各1例,ALT升高2例,慢性萎缩性胃炎、骨质疏松各2例,另有1例反复恶心患者在第28周失访(表5)。

治疗后第0-26周期间4个治疗组不良反应发生例数经 χ^2 检验,无明显统计学差异($P>0.05$)。第27-52周期间4组间不良反应发生数经 χ^2 检验,长期联合组与奥美拉唑组间差异相近($P>0.05$),而短期联合组明显低于奥美拉唑组及长期联合组(χ^2 值分别为4.46和6.12, $P<0.05$)。4个治疗组第0-26周不良反应发生例数分别与第27-52周期间比较,经 χ^2 检验,差异相近($P>0.05$)(表4)。而第0-52周期间4组间不良反应发生例数经 χ^2 检验,长期联合组与奥美拉唑组间差异相近(χ^2 值为0.02, $P>0.05$);而该两组不良反应例数明显高于短期联合组(χ^2 值分别为3.36和5.56, $P<0.05$),而经 χ^2 检验与替普瑞酮组无明显差异。

3 讨论

NSAIDs是临床常用的解热、镇痛、抗炎、抗风湿和抗血小板聚集药物,其通过抑制环氧合酶(cyclooxygenase, COX)减少前列腺素(prostaglandins, PGs)的合成起作用。由于NSAIDs临床应用广泛,其不良反应报道日益增多,涉及多个系统和器官,在胃肠道方面以消化性溃疡出血和穿孔最为严重^[13-17]。NSAIDs主要通过局部损伤和系统作用两方面的机制产生胃肠道黏膜上皮的损害:其局部损伤是通过作用于胃肠道黏膜上皮细胞使其通透性增加,从而激活中性粒细胞的炎症反应;系统作用方面^[18]主要为COX-1

的作用,而减少PG合成,使胃黏膜血供减少,抑制胃黏膜细胞的碳酸盐分泌,致黏膜糜烂出血、溃疡形成。据美国FDA资料^[19]显示NSAID所致不良事件约占药物不良反应的1/3;最新来自英国皇家大学医院的一项临床研究^[20]亦指出在长期使用(>3 mo)NSAIDs的患者中,经内镜观察消化性溃疡的发生率比对照组高出15%-30%,其出血的发生率随着患者的年龄增长、合并 *H. pylori* 感染、既往有消化道出血病史以及同时服用华法林等情况下明显升高。虽然临床上NSAIDs引起的胃肠不良反应相当普遍,但目前仍有着不可替代的作用。

对于NSAIDs药物所致消化性溃疡及上消化道大出血,目前临床上多采用PPI制剂进行预防和治疗^[7];然而对于因基础疾病不能停用NSAIDs的患者,需长期使用PPI类药物才能达到临床需要。而长时间应用PPIs进行抑酸治疗的同时,可加重胃黏膜萎缩的发生并增加胃癌发生的危险、增加长骨骨折和社区获得性难辨梭菌腹泻的风险^[10,21-24],最近还发现其可导致严重的低镁血症^[25],从而影响了PPI的临床应用。而替普瑞酮作为一种胃黏膜保护剂,具有广谱抗溃疡作用,主要通过激活葡萄糖胺合成酶,加速胃黏膜及胃黏液层中高分子糖蛋白的合成,增加胃黏膜疏水层中磷脂的含量,并且提高胃黏液中的重碳酸盐而增加胃黏液层的疏水性而发挥其对胃黏膜的局部保护作用^[26,27]。此外,替普瑞酮能提高溃疡中胃黏膜增生区细胞的增生能力,维持黏膜增生细胞区的平衡,提高胃体及幽门部黏膜中前列腺素E2的生物合成能力,改善胃黏膜血流,促进胃黏膜损伤的愈合,提高溃疡的愈合质量^[11,28]。理论上在治疗NSAIDs相关性溃疡具有

广阔的前影, 但是短期使用PPI后换用替普瑞酮, 还是与PPI合用一段时间后单用, 对于其在临床上的配伍策略和相关的疗效如何, 目前国内仍未见相关的报道。

为观察长期应用替普瑞酮能否达到与长期应用PPI同样的疗效, 本研究将相关的病例分为4个实验组进行对照研究, 并排除合并有*H. pylori*感染、恶性肿瘤及内镜下止血不成功等可能干扰溃疡愈合因素的患者; 所有参加试验的患者在首次出血24 h内采用内镜下喷洒孟氏液的方法进行快速止血治疗, 并在病情稳定后再服用原来种类的NSAIDs药物以治疗原发疾病。研究结果提示奥美拉唑组与短期联合组和长期联合组与在治疗NSAIDs所致的溃疡出血的患者在第26周内和第52周内的再出血率经比较无明显差异($P>0.05$); 但短期内(第0-13周)替普瑞酮组发生再出血的风险明显高于其他3组($P<0.05$)。提示替普瑞酮在临床上对溃疡黏膜的修复作用起效慢, 在对NSAIDs所致的溃疡出血的患者进行再出血的预防中, 近期单独服用替普瑞酮的疗效显著低于服用奥美拉唑或两药的联合应用; 但在中长期(>13 wk)的预防作用中, 单用替普瑞酮的疗效与其他3个治疗方案相仿; 替普瑞酮短期联合奥美拉唑可作为一个理想的治疗方案对NSAIDs所致溃疡再出血进行预防。机制可能与在急性胃黏膜损伤的修复期内, 提高胃内的pH值可加速溃疡的愈合, 减少溃疡的复发和再出血的发生; 但对于溃疡已良好愈合的患者, 长期单用替普瑞酮进行胃黏膜保护治疗亦能有效的预防再出血的发生。

基于药物不良反应的安全性观察, 本研究对药物可能导致的相关的副作用进行了观察和统计分析, 在所提供的4个治疗方案中并未发现严重的导致停药的不良反应; 传统的长期应用奥美拉唑的不良反应发生率在26 wk内与替普瑞酮相当, 但随着时间的增加(观察终点第52周)则较前一个观察周期显著增高($P<0.05$); 替普瑞酮的不良反应并未发现随着时间的增加而增加的现象($P>0.05$); 提示在临床预防NSAIDs相关性溃疡复发和再出血的药物中, 替普瑞酮在药物不良反应的发生要显著低于奥美拉唑, 替普瑞酮可作为一个PPI类药物的理想的替代药品。

在临床进行NSAIDs所致的溃疡和出血的预防和治疗上, 本研究指出在中长期的使用中, 替普瑞酮可以达到与目前临床普遍采用的长期使用PPI类药物相同的疗效, 并可减少相关的药物

并发症的发生; 但由于替普瑞酮的起效时间较PPI长, 在治疗的初期(13 wk内)联合应用PPI类药物是个理想的选择。但是本研究亦存在时间短, 纳入病例相对较少的不足, 可扩大样本量, 延长试验观察时间进行再次研究。

4 参考文献

- 1 马师洋, 陈旻湖. 非甾体抗炎药胃黏膜损害的危险因素与预防. 新医学 2008; 39: 190-192
- 2 Warren-Stomberg M, Brattwall M, Jakobsson JG. Non-opioid analgesics for pain management following ambulatory surgery, a review. *Minerva Anesthesiol* 2013 Mar 19. [Epub ahead of print] [PMID: 23511350]
- 3 刁萍萍, 杜奕奇, 李兆申. NSAIDs与消化性溃疡出血的研究进展. 实用临床医学 2007; 8: 135-138
- 4 Taha AS, Angerson WJ, Prasad R, McCloskey C, Gilmour D, Morran CG. Clinical trial: the incidence and early mortality after peptic ulcer perforation, and the use of low-dose aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 878-885 [PMID: 18644010]
- 5 Kaviani MJ, Pirastehfar M, Azari A, Saberifiroozi M. Etiology and outcome of patients with upper gastrointestinal bleeding: a study from South of Iran. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 253-259 [PMID: 20871188 DOI: 10.4103/1319-3767.70608]
- 6 Lukás M, Chalupná P, Adamec S, Bortlík M, Novotný A. [Adverse effects of nonsteroidal antirheumatic agents on the digestive tract]. *Sb Lek* 2002; 103: 265-272 [PMID: 12688151]
- 7 Yeomans ND. Overview of 50 years' progress in upper gastrointestinal diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24 Suppl 3: S2-S4 [PMID: 19799693 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06064.x]
- 8 Karateev AE, Uspenskiĭ IuP, Pakhomova IG, Nasonov EL. [Combined treatment of gastric ulcers induced by nonsteroid antiinflammatory drugs. Results of 4-week population-based controlled trial of efficacy of proton pump inhibitor combination with tripotassium bismuth dicitrate]. *Ter Arkh* 2009; 81: 62-67 [PMID: 19663196]
- 9 Zhu LL, Xu LC, Chen Y, Zhou Q, Zeng S. Poor awareness of preventing aspirin-induced gastrointestinal injury with combined protective medications. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3167-3172 [PMID: 22791953 DOI: 10.3748/wjg.v18.i24.3167]
- 10 Svoboda Jr AC. Increasing concerns about chronic proton pump inhibitor use. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33: 3-7 [PMID: 11418781 DOI: 10.1097/00004836-200107000-00002]
- 11 吕宾, 张璐, 范一宏, 孟立娜, 张烁. 替普瑞酮对类固醇致胃黏膜损伤的保护作用. 中华医学杂志 2005; 85: 2749-2753
- 12 Katoh Y, Tanaka M, Kawashima H. [Protective effects of teprenone and gefarnate against taurocholate/hydrochloric acid-induced acute gastric mucosal lesions in rats]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 1998; 112: 323-331 [PMID: 10098214 DOI: 10.1254/fpj.112.323]
- 13 Fortun PJ, Hawkey CJ. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 134-141 [PMID: 17268241]
- 14 Ramakrishnan K, Salinas RC. Peptic ulcer disease.

■同行评价

本文设计合理、结果可信、结论客观, 具有一定的临床实用价值。

- Am Fam Physician* 2007; 76: 1005-1012 [PMID: 17956071]
- 15 Kawai T, Fukuzawa M, Moriyasu F, Yamashina A. [Antithrombotic drug and gastrointestinal injuries]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 365-368 [PMID: 23631222]
- 16 Lindberg M. [Use of NSAIDs in rheumatoid arthritis should be limited]. *Ugeskr Laeger* 2013; 175: 1039-1041 [PMID: 23582126]
- 17 Lau JY, Barkun A, Fan DM, Kuipers EJ, Yang YS, Chan FK. Challenges in the management of acute peptic ulcer bleeding. *Lancet* 2013; 381: 2033-2043 [PMID: 23746903 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60596-6]
- 18 Kato M, Ono S, Nakagawa M, Shimizu Y, Asaka M, Nakagawa S. [Position of NSAIDs in causal factors of peptic ulcer]. *Nihon Rinsho* 2007; 65: 1760-1767 [PMID: 17926521]
- 19 Lanas A, Hunt R. Prevention of anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal damage: benefits and risks of therapeutic strategies. *Ann Med* 2006; 38: 415-428 [PMID: 17008305 DOI: 10.1080/07853890600925843]
- 20 Bjarnason I. Gastrointestinal safety of NSAIDs and over-the-counter analgesics. *Int J Clin Pract Suppl* 2013; (178): 37-42 [PMID: 23163547 DOI: 10.1111/ijcp.12048]
- 21 Yang YX, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006; 296: 2947-2953 [PMID: 17190895 DOI: 10.1001/jama.296.24.2947]
- 22 van Esch RW, Kool MM, van As S. NSAIDs can have adverse effects on bone healing. *Med Hypotheses* 2013; 81: 343-346 [PMID: 23680000 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.03.042]
- 23 Keszthelyi D, Jansen SV, Schouten GA, de Kort S, Scholtes B, Engels LG, Masclee AA. Proton pump inhibitor use is associated with an increased risk for microscopic colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1124-1128 [PMID: 21039674 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04453.x]
- 24 Coté GA, Howden CW. Potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 208-214 [PMID: 18625128 DOI: 10.1007/s11894-008-0045-4]
- 25 Luk CP, Parsons R, Lee YP, Hughes JD. Proton pump inhibitor-associated hypomagnesemia: what do FDA data tell us? *Ann Pharmacother* 2013; 47: 773-780 [PMID: 23632281 DOI: 10.1345/aph.1R556]
- 26 Ushijima H, Tanaka K, Takeda M, Katsu T, Mima S, Mizushima T. Geranylgeranylacetone protects membranes against nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Mol Pharmacol* 2005; 68: 1156-1161 [PMID: 16046660]
- 27 马师洋, 熊理守, 董吁钢, 杨岫岩, 高修仁, 何建桂, 梁柳琴, 崔毅, 陈旻湖. 非甾体类抗炎药相关性胃黏膜损伤情况及替普瑞酮保护作用的随机对照观察. *中华医学杂志* 2009; 89: 1122-1125
- 28 Lü B, Zhang L, Fan YH, Meng LN, Zhang S. [Protection of gastric mucosa against steroids-induced damage by teprenone]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2005; 85: 2749-2753 [PMID: 16324314 DOI: 10.1124/mol.105.015784]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

MicroRNA与胃癌相关性的研究进展

刘皓, 范尧夫, 魏睦新

刘皓, 范尧夫, 南京医科大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 江苏省南京市 210029

刘皓, 主要从事中西医结合消化疾病的基础与临床研究.

江苏省中医药管理局基金资助项目, No. JD11040

作者贡献分布: 本文综述由刘皓完成; 由范尧夫负责修改; 魏睦新负责审核.

通讯作者: 魏睦新, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科.

weimuxin@njmu.edu.cn

电话: 025-68136267

收稿日期: 2013-04-30 修回日期: 2013-06-03

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer

Hao Liu, Yao-Fu Fan, Mu-Xin Wei

Hao Liu, Yao-Fu Fan, the First Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Program of Jiangsu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, No. JD11040

Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn

Received: 2013-04-30 Revised: 2013-06-03

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a class of highly conservative small non-coding RNA molecules, about 16-29 nt in length. Being expressed in a temporal- and tissue-specific manner, miRNAs can be involved in gene expression and regulation and are important in regulating cell proliferation, differentiation and apoptosis. Since miRNAs are significantly differentially expressed between normal tissues and tumor tissues, they play an important role in the process of tumor development. This paper reviews the progress in understanding the association between miRNAs and gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MicroRNAs; Gastric cancer; Tumor suppressor genes; Carcinogenic factors

Liu H, Fan YF, Wei MX. Progress in understanding association between microRNAs and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2289-2293 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2289.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2289>

摘要

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类高度保守的、长度约为16-29 nt的内源性非编码小RNA. 他们具有时序性和组织特异性, 对细胞的增殖、分化和凋亡具有重要的调节作用, 在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同. miRNA可以通过参与基因表达调控, 在肿瘤的发生发展过程中扮演着重要的角色. 本文就miRNA在胃癌方面的研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 微小RNA; 胃癌; 抑癌基因; 致癌因素

核心提示: 微小RNA(microRNAs, miRNAs)对细胞的增殖、分化和凋亡有重要的调节作用, 在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同. miRNA可以通过参与基因表达调控, 在胃癌(gastric cancer, GC)的发生发展过程中扮演着重要的角色, 针对其与GC相关性的进一步研究, 可能为临床对GC的早期干预提供新的策略.

刘皓, 范尧夫, 魏睦新. MicroRNA与胃癌相关性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(23): 2289-2293 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2289.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2289>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是消化系最常见的恶性肿瘤. 目前, 在世界范围内GC占肿瘤死亡率的第2位^[1], 而在我国GC发病率和死亡率均居恶性肿瘤的首位^[2]. GC的发生、发展是多因素、多步骤的复杂过程. 迄今为止GC在临床上缺乏理想的早期检测方法, 从而给其早期诊断、预后监

■背景资料

胃癌(gastric cancer, GC)在我国发病率和死亡率均居恶性肿瘤之首, 但迄今临床上仍缺乏早期诊断和治疗的有效手段. 通过参阅近十年相关领域文献报道, 客观分析了微小RNA(microRNAs, miRNAs)通过参与基因表达调控, 在GC诊断、治疗等方面应用前景.

■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

■ 研发前沿

miRNA可作为癌基因或抑癌基因在GC的诊断和治疗中发挥作用,近年研究发现miR-21、miR-421等通过促进细胞增殖/抑制凋亡促进肿瘤生长,miR-15a、miR-16-1等则可通过负性调控靶基因抑制GC的发生发展,这为临床上GC的早期诊治提供了新的思路,但其更深入的分子机制尚待进一步阐明。

测及GC患者的康复等造成了一定的困难^[3]。由于微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类具有相对特异性调控作用的小RNA,几乎参与了肿瘤发生和发展的整个过程^[4,5],因此成为目前的研究热点,其在肿瘤诊断、治疗等方面均有很好的应用前景。本文主要探讨miRNA与GC方面研究的最新进展作一综述。

1 MicroRNAs的发现及其作用的分子机制

1.1 miRNA的发现 Lee等^[6]于1993年在线虫(*C. elegans*)体内发现了第一种特异性表达的基因*lin-4*,拉开了研究miRNA的序幕。2000年Reinhart等^[7]再次在线虫中发现了第2个异时性开关基因*let-7*,存在于线虫幼虫的第3、4期及成虫期。当时科学家将这类基因所编码的小分子RNA称为stRNA(small temporal RNA)^[7]。随着研究的进展,科研人员相继在多种真核模式生物和细胞中找到了相类似的小分子RNA,并将其称为微小RNA(microRNAs)、小核RNA(small nuclear RNA)、PIWI(P-element induced wimpy testis)或小干扰RNA等^[4,8]。miRNA的发现为研究肿瘤疾病发生、发展及诊断治疗等提供了新的视角。

1.2 miRNA的生物合成过程及作用机制 miRNA的合成及其作用机制是一个十分复杂的生理过程: microRNAs初始物一般约为1000 nt大小的含有茎环结构的小片段RNA。首先,miRNA基因在核糖核苷酸II的作用下转录成pri-microRNA(pri-miRNA),在细胞核内的酶RNaseIII Drosha^[9]的作用下形成miRNA前体(pre-miRNA),核内的转运蛋白将pre-miRNA转运到细胞质中。然后,在细胞质中的另一种酶Dicer^[10]把miRNA前体作用成双链miRNA。成熟miRNA(mature-miRNA)与多个蛋白一起形成miRNA相关的多蛋白RNA诱导沉默复合物(miRNA-associated multiprotein RNA-induced silencing complex, miRISC),形成非对称的RISC复合物(asymmetric RISC assembly)^[11,12]。该非对称RISC复合物能够与目标靶mRNA相结合。miRNA一般通过与目标mRNA分子的3'端非编码区域(3'-untranslated region, 3'-UTR)特异结合调节基因的表达,主要有两种方式:即靶mRNA的降解和翻译抑制^[13]。

2 miRNA的检测方法

目前miRNA检测方法包括RNA印迹分析法、miRNA基因芯片(microarray)和实时定量逆转录

聚合酶链反应(RT-PCR)检测等。其中RNA印迹分析法被认为是检测miRNA的“金标准”,此种方法相对容易且成熟;缺点是耗时,需样品量大,灵敏度不高,难以区分有很少序列差别的序列^[14,15]。基因芯片法可以实现快速、高通量检测^[16],常用于临床科研病例的初步筛查;缺点是经济成本高,难区分前体miRNA和成熟miRNA,有时还需要借助PCR法验证^[17,18]。实时荧光定量PCR只需微量样品,高灵敏度,高特异性,并且可以实时观察监测而被广泛应用于临床科研;但其需要特殊设计或对样品做特殊处理,如采用RNA加尾和引物延伸RT-PCR法^[19]或茎环结构引物(stem-loop)RT-PCR法^[20]。

3 miRNA在GC中的研究

GC的发生是多阶段多基因参与的过程^[21,22],早期诊断、早期手术是降低GC病死率的重要因素之一,但临床诊治的GC病例大多数均是进展期,5年生存率难以有显著的提高。因此对GC发生的机制、调控和应用一直是GC研究的一个热点^[23,24]。近年来研究表明,miRNA可以作为癌基因和/或抑癌基因在GC的诊断和治疗中发挥作用。

3.1 miRNA致癌作用的研究 某些miRNA具有促细胞增殖/抑制细胞凋亡,促进肿瘤生成作用。目前miR-21是作用机制较清楚的miRNA,其在GC及多种肿瘤组织中显示出过表达。Jiang等^[25]研究发现,miR-421在73.33%的GC标本中呈现过表达,将miR-421作为标志物,GC检出率明显高于通过血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)的检出率($P<0.001$)。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性的GC标本较*H. pylori*阴性的GC标本中miR-21、miR-106b-25及miR-221, miR-222表达显著增加,miR-218的表达水平显著下降^[26,27]。Liu等^[28]研究发现,抑制miR-27a可控制GC细胞的生长;消除GC细胞中的miR-27a,则其潜在靶点的mRNA水平及蛋白水平同时升高。Li等^[29]发现miR-107作为一种癌基因在GC组织中过表达,其表达的上调可促进GC细胞增殖。Katada等^[30]经临床研究发现42例未分化GC组织及配对组织中的miR-20b、miR-150表达上调,该上调同样可促进GC细胞的增殖能力。Volinia等^[31]发现miR-21在肺癌结肠癌、GC、前列腺癌和胰管癌中均显著过表达,提示miR-21在肿瘤形成过程中起广泛的致癌作用。Lu等^[32]也发现miR-21具有癌基因的作用。因此作者推测miR-21、miR-421、miR-218等或许

可以考虑作为临床上GC诊断的标志物。

3.2 miRNA抑癌作用的研究 研究发现大约有一半的人类miRNAs集中于基因组的脆性位点, 这些位点与癌症关系密切, 可能在癌症发展中起抑癌基因的作用^[33]。miR-15a和miR-16-1能负调节同一靶基因, 使得致癌基因*Bcl-2*在人类多种癌症中过度表达, 因此miR-15a和miR-16-1的缺失或下调导致*Bcl-2*表达增加, 促进肿瘤的发生^[34]。Wang等和Gou等^[35,36]发现microRNA-29家族成员(miR-29a, -29b和-29c)可通过作用靶点Cdc42抑制GC细胞的增殖、转移和侵袭。Bandres等^[37]研究显示miR-101在GC组织中表达下降, 通过靶基因(*EZH2*、*COX-2*、*Mcl-1*及*Fos*)不但能在体外抑制GC细胞增殖、迁移和侵袭, 而且能在体内抑制移植瘤的生长。Lang等^[38]发现miRNA-331-3p直接作用于细胞周期相关因子-转录因子1(transcription factor 1, E2F1), 导致GC细胞生长停滞, 可将其作为一个有潜力的抑癌基因应用于临床治疗。Guo等^[39]的研究结果显示miR-451在人GC组织中低表达, 其表达水平与患者预后呈负相关。Du等^[40]发现miR-141的过度表达可能会影响肿瘤细胞的增殖, 从而在GC的发生、发展过程中起作用。

3.3 miRNA与GC细胞耐药性 目前化学治疗在临床上已经是癌症患者重要的治疗手段之一。多药耐药对于癌症患者的化学治疗是一个极大的障碍。近年来科研工作者从miRNA入手阐明GC多重耐药机制, 努力寻找能够逆转耐药性的新方法。

某些miRNA能通过多种不同途径增强肿瘤细胞对化学治疗药物的敏感性。Xia等^[41]通过miRNA芯片检测GC耐长春新碱(vincristin, VCR)细胞SGC7901/VCR和其亲本细胞SGC7901的miRNA表达谱, 找出差异表达的miRNA。实验结果显示在SGC7901中转染miR-15b及miR-16特异性拮抗剂后能够使细胞耐药。近年研究发现, miR-200c可能通过上调E-cad、PTEN和Bax蛋白表达而逆转GC SGC7901/DDP细胞对DDP的耐药^[42]。Wu等^[43]通过分析6个羟基喜树碱(HCPT)耐药性GC细胞株(BGC-823、SGC7901、MGC-803、HGC-27、NCI-N87和AGS)对HCPT的敏感性, 发现上述6个不同的细胞系的药物敏感度均不同, 并且在耐药性细胞株中, 有多种异常的miRNA靶基因与GC的耐药性显著相关, 作者推测以miRNA表达差异调节GC耐药性, 可作为GC干预的新目标。

3.4 miRNA与GC的治疗 虽然miRNA在肿瘤的干

预方面有广阔的前景, 但目前应用于临床治疗仍有很多问题亟待解决。尽管miRNA尚未应用于GC的临床治疗, 然而其策略不外乎从致癌和抑癌两个方面入手。

如研究开发出的Antagomirs-拮抗miRNA的药物, 实验证明将与miR-16、miR-192、miR-194互补的Antagomirs通过尾静脉注入小鼠体内, 结果显示相应的miRNA在肝、肾、胃肠道等多种组织中均受到抑制^[37]。Cho等^[44]使用miR-327的反义寡核苷酸(AS-miR-327)抑制miR-327的表达, 增加其靶基因*LATS2*(large tumor suppressor homolog 2)的表达, 使细胞周期停滞在G₂/M阶段。Bandres等^[37]研究发现过表达miR-451能抑制GC细胞的增殖活性, 并提高放射治疗对其敏感性。Saito等^[45]将组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂及GC细胞中Alu重复片段的DNA去甲基化, 其可以激活沉默表达的miR-512-5p, 从而导致GC细胞凋亡。利用沉默的Alu相关miRNA的激活可能成为GC治疗的一个新的方法。

Takagi等^[46]单独应用miR-145和联合应用miR-143在抑制人GC细胞生长方面差别不大, 但是联合应用在抑制增殖方面的效果比单独使用要强。Wan等^[47]研究发现, 转染miR-9前体对人GC细胞系MGC-803和SCID小鼠异种移植瘤的生长有抑制作用。Li等^[48]用人工合成的microRNA(PCMV-PRL3 microRNA)使靶基因PRL-3在GC细胞株SGC7901中的表达沉默, 显著抑制SGC7901细胞的生长。Luo等^[49]在SGC7901细胞系中加入has-miR-9和has-miR-433后RAB34和GRB2的表达上调要高于直接加入miR-9和miR-433之后的上调程度。miR-9和miR-433等的抑癌基因作用为GC的分子治疗提供了新的思路。

4 结论

根据目前研究推测哺乳动物有1000多个miRNAs, 在细胞分化、生物发育及疾病发生、发展的过程中发挥着巨大作用。近年来研究人员在miRNA的生物合成、作用机制、疾病相关性等研究领域取得了较大的进展, 但是大部分基因的功能、作用机制以及在疾病发展过程中的作用尚未完全阐明。随着对miRNA调控研究的深入, miRNA在GC的发生机制上将进一步被阐明, 从而为推动miRNAs在GC等肿瘤临床诊断与治疗领域中的广泛应用。

■ 相关报道

相关研究表明, 将组蛋白去乙酰化酶抑制剂及GC细胞中Alu重复片段的DNA去甲基化, 其可以激活沉默表达的miR-512-5p, 从而导致GC细胞凋亡。利用沉默的Alu相关miRNA的激活可能成为GC治疗的一个新的方法。

■创新盘点

本文总结了近年 miRNA 与 GC 相关研究新进展, 从 miRNA 致癌作用、抑癌作用以及逆转 GC 细胞耐药性等方面, 对 miRNA 与 GC 发生、发展的关系作了客观分析, 并展望其在 GC 早期临床诊断和治疗上的应用前景。

5 参考文献

- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
- Alberts SR, Cervantes A, van de Velde CJ. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment. *Ann Oncol* 2003; 14 Suppl 2: ii31-ii36 [PMID: 12810455 DOI: 10.1093/annonc/mdg726]
- 戴俏琼, 叶再元, 陶厚权, 王惠菊, 何徐军. MicroRNA 与胃癌的关系. *国际病理科学与临床杂志* 2011; 31: 145-149
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs--the micro steering wheel of tumour metastases. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 293-302 [PMID: 19262572 DOI: 10.1038/nrc2619]
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]
- Kutter C, Svoboda P. miRNA, siRNA, piRNA: Knowns of the unknown. *RNA Biol* 2008; 5: 181-188 [PMID: 19182524]
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419 [PMID: 14508493 DOI: 10.1038/nature01957]
- Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363-366 [PMID: 11201747 DOI: 10.1038/35053110]
- Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aroin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 2003; 115: 199-208 [PMID: 14567917 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00759-1]
- Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209-216 [PMID: 14567918 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00801-8]
- 谢一帆, 毕力夫, 吴岩. miRNA 与肿瘤. *内蒙古医学院学报* 2008; 30: 214-218
- 宋亚锋, 陶凯雄. MicroRNA 在胃癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1911-1913
- Hamilton AJ, Baulcombe DC. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* 1999; 286: 950-952 [PMID: 10542148 DOI: 10.1126/science.286.5441.950]
- Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942 DOI: 10.1073/pnas.0403293101]
- Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]
- Stewart B, Lancaster G, Lawson J, Williams K, Daly J. Validation of the Alder Hey Triage Pain Score. *Arch Dis Child* 2004; 89: 625-630 [PMID: 15210492 DOI: 10.1136/adc.2003.032599]
- Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, Barbisin M, Xu NL, Mahuvakar VR, Andersen MR, Lao KQ, Livak KJ, Guegler KJ. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: e179 [PMID: 16314309 DOI: 10.1093/nar/gni178]
- Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192-198 [PMID: 16482617]
- Yasui W, Yokozaki H, Fujimoto J, Naka K, Kuniyasu H, Tahara E. Genetic and epigenetic alterations in multistep carcinogenesis of the stomach. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 111-115 [PMID: 10779229]
- 夏加增. 微小RNA与肿瘤转移. *肿瘤研究与临床* 2009; 21: 65-67
- 裴雷, 夏加增. miRNA 与胃癌关系的研究进展. *淮海医药* 2011; 29: 181-183
- Jiang Z, Guo J, Xiao B, Miao Y, Huang R, Li D, Zhang Y. Increased expression of miR-421 in human gastric carcinoma and its clinical association. *J Gastroenterol* 2010; 45: 17-23 [PMID: 19802518 DOI: 10.1007/s00535-009-0135-6]
- Zhang Z, Li Z, Gao C, Chen P, Chen J, Liu W, Xiao S, Lu H. miR-21 plays a pivotal role in gastric cancer pathogenesis and progression. *Lab Invest* 2008; 88: 1358-1366 [PMID: 18794849 DOI: 10.1038/labinvest.2008.94]
- Gao C, Zhang Z, Liu W, Xiao S, Gu W, Lu H. Reduced microRNA-218 expression is associated with high nuclear factor kappa B activation in gastric cancer. *Cancer* 2010; 116: 41-49 [PMID: 19890957 DOI: 10.1002/cncr.24743]
- Liu T, Tang H, Lang Y, Liu M, Li X. MicroRNA-27a functions as an oncogene in gastric adenocarcinoma by targeting prohibitin. *Cancer Lett* 2009; 273: 233-242 [PMID: 18789835 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.08.003]
- Li X, Zhang Y, Shi Y, Dong G, Liang J, Han Y, Wang X, Zhao Q, Ding J, Wu K, Fan D. MicroRNA-107, an oncogene microRNA that regulates tumour invasion and metastasis by targeting DICER1 in gastric cancer. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 1887-1895 [PMID: 21029372 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01194.x]
- Katada T, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitui A, Mori Y, Ogawa R, Harata K, Fujii Y. microRNA expression profile in undifferentiated gastric cancer. *Int J Oncol* 2009; 34: 537-542 [PMID: 19890957 DOI: 10.1002/cncr.24743]

- 19148490]
- 31 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]
- 32 Lu Z, Liu M, Stribinskis V, Klinge CM, Ramos KS, Colburn NH, Li Y. MicroRNA-21 promotes cell transformation by targeting the programmed cell death 4 gene. *Oncogene* 2008; 27: 4373-4379 [PMID: 18372920 DOI: 10.1038/onc.2008.72]
- 33 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2999-3004 [PMID: 14973191 DOI: 10.1073/pnas.0307323101]
- 34 李新华, 张桂英. microRNAs与胃癌的研究进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2009; 18: 980-984
- 35 Wang HJ, Ruan HJ, He XJ, Ma YY, Jiang XT, Xia YJ, Ye ZY, Tao HQ. MicroRNA-101 is down-regulated in gastric cancer and involved in cell migration and invasion. *Eur J Cancer* 2010; 46: 2295-2303 [PMID: 20712078 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.05.012]
- 36 Guo X, Guo L, Ji J, Zhang J, Zhang J, Chen X, Cai Q, Li J, Gu Q, Liu B, Zhu Z, Yu Y. miRNA-331-3p directly targets E2F1 and induces growth arrest in human gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 398: 1-6 [PMID: 20510161 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.05.082]
- 37 Bandres E, Bitarte N, Arias F, Agorreta J, Fortes P, Agirre X, Zarate R, Diaz-Gonzalez JA, Ramirez N, Sola JJ, Jimenez P, Rodriguez J, Garcia-Foncillas J. microRNA-451 regulates macrophage migration inhibitory factor production and proliferation of gastrointestinal cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2281-2290 [PMID: 19318487 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1818]
- 38 Lang N, Liu M, Tang QL, Chen X, Liu Z, Bi F. Effects of microRNA-29 family members on proliferation and invasion of gastric cancer cell lines. *Chin J Cancer* 2010; 29: 603-610 [PMID: 20507733 DOI: 10.5732/cjc.009.10597]
- 39 Guo J, Miao Y, Xiao B, Huan R, Jiang Z, Meng D, Wang Y. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 652-657 [PMID: 19175831 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05666.x]
- 40 Du Y, Xu Y, Ding L, Yao H, Yu H, Zhou T, Si J. Down-regulation of miR-141 in gastric cancer and its involvement in cell growth. *J Gastroenterol* 2009; 44: 556-561 [PMID: 19363643 DOI: 10.1007/s00535-009-0037-7]
- 41 Xia L, Zhang D, Du R, Pan Y, Zhao L, Sun S, Hong L, Liu J, Fan D. miR-15b and miR-16 modulate multi-drug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells. *Int J Cancer* 2008; 123: 372-379 [PMID: 18449891 DOI: 10.1002/ijc.23501]
- 42 陈勇, 左静, 刘颖, 高鸿, 刘巍. miRNA-200c逆转胃癌 SGC7901/DDP细胞对顺铂的耐药性及其相关机制. *肿瘤* 2010; 30: 646-650
- 43 Wu XM, Shao XQ, Meng XX, Zhang XN, Zhu L, Liu SX, Lin J, Xiao HS. Genome-wide analysis of microRNA and mRNA expression signatures in hydroxycamptothecin-resistant gastric cancer cells. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 259-269 [PMID: 21293479 DOI: 10.1038/aps.2010.204]
- 44 Cho WJ, Shin JM, Kim JS, Lee MR, Hong KS, Lee JH, Koo KH, Park JW, Kim KS. miR-372 regulates cell cycle and apoptosis of ags human gastric cancer cell line through direct regulation of LATS2. *Mol Cells* 2009; 28: 521-527 [PMID: 19937137 DOI: 10.1007/s10059-009-0158-0]
- 45 Saito Y, Suzuki H, Tsugawa H, Nakagawa I, Matsuzaki J, Kanai Y, Hibi T. Chromatin remodeling at Alu repeats by epigenetic treatment activates silenced microRNA-512-5p with downregulation of Mcl-1 in human gastric cancer cells. *Oncogene* 2009; 28: 2738-2744 [PMID: 19503096 DOI: 10.1038/onc.2009.140]
- 46 Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
- 47 Wan HY, Guo LM, Liu T, Liu M, Li X, Tang H. Regulation of the transcription factor NF-kappaB1 by microRNA-9 in human gastric adenocarcinoma. *Mol Cancer* 2010; 9: 16 [PMID: 20102618 DOI: 10.1186/1476-4598-9-16]
- 48 Li Z, Zhan W, Wang Z, Zhu B, He Y, Peng J, Cai S, Ma J. Inhibition of PRL-3 gene expression in gastric cancer cell line SGC7901 via microRNA suppressed reduces peritoneal metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348: 229-237 [PMID: 16875667 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.07.043]
- 49 Luo H, Zhang H, Zhang Z, Zhang X, Ning B, Guo J, Nie N, Liu B, Wu X. Down-regulated miR-9 and miR-433 in human gastric carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 82 [PMID: 19531230 DOI: 10.1186/1756-9966-28-82]

同行评价

本文基本反映出当前miRNA研究的现状及其与GC的关系, 条理清晰, 表达准确, 对从事该方向研究有一定参考意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



累及下腔静脉肝癌治疗的进展

段昌虎, 邵升

■背景资料

肝癌累及下腔静脉是肿瘤晚期及预后不良的重要标志, 非手术治疗患者在短期内因肺栓塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡, 手术治疗使得这部分患者的预后及生存率有了较大改善。

段昌虎, 邵升, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科 黑龙江省哈尔滨市 150086

段昌虎, 主要从事肝胆胰脾外科的研究。

作者贡献分布: 本文综述由段昌虎完成; 邵升审校。

通讯作者: 邵升, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科。taisheng73@gmail.com

电话: 0451-86605356

收稿日期: 2013-04-28 修回日期: 2013-06-20

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis

Chang-Hu Duan, Sheng Tai

Chang-Hu Duan, Sheng Tai, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Sheng Tai, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. taisheng73@gmail.com

Received: 2013-04-28 Revised: 2013-06-20

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) with compressed inferior vena cava (IVC) or IVC tumor thrombosis (IVCTT) is an advanced-stage disease that has traditionally been considered a relative contraindication for surgical management and therefore has an extremely poor prognosis. Non-surgical treatment for these patients can lead to tumor invasion to the right atrium, which can cause heart failure and sudden death. In recent years, the development of innovative surgical techniques has made a curative surgical approach to tumors involving both the liver and IVC possible. The purpose of this article is to review the progress in treatment of HCC with IVC invasion and/or thrombosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Inferior vena cava; Diagnosis; Treatment

Duan CH, Tai S. Progress in treatment of hepatocellular carcinoma with inferior vena cava invasion and/or thrombosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2294-2299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2294.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2294>

摘要

累及下腔静脉肝癌的治疗仍是医学难题, 既往一直被视为手术禁忌, 患者主要接受非手术治疗或放弃治疗, 其生存率较低。近年来随着医学的进步, 手术治疗使得这种晚期疾病由不可治变为部分可治。其预后及生存率有了较大改善, 本文就累及下腔静脉肝癌的术前诊断、手术治疗及术后远期疗效做一综述。为进一步的临床规范化治疗累及下腔静脉的肝癌提供参考。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝癌; 下腔静脉; 诊断; 治疗

核心提示: 对于合并腔静脉癌栓的肝癌患者来说, 非手术治疗患者在短期内因肺栓塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡。随着医学的进步, 手术治疗使得这种晚期疾病由不可治变为部分可治甚至治愈。从延长患者的生存期, 改善患者的生活质量的角度出发, 对条件满足的该类患者我们应尽可能实施肿瘤切除及腔静脉癌栓取出。

段昌虎, 邵升. 累及下腔静脉肝癌治疗的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2294-2299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2294.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2294>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)合并血管侵犯被认为是肿瘤晚期及预后不良的重要标志^[1-3]。肝癌累及下腔静脉(inferior vena cava, IVC)指肝癌压迫下腔静脉、与之紧密黏连甚至直接侵犯, 或有IVC内癌栓形成。过去认为术中有大出血或空气栓塞的风险以及术后肝储备功能不足而视为手术禁忌症^[4]。非手术治疗不能使患者获得良好疗效, 患者在短期内因肺肿瘤栓

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

塞或肿瘤侵入右心房引起心衰而死亡^[5,6]。从肿瘤根治的角度来看, 该类患者短期内发生远处转移的可能性极大, 不适合手术治疗; 但从解除危急情况、避免猝死的发生, 手术治疗仍具有重要意义^[7]。

1 累及下腔静脉肝癌的概述

1.1 发病率 肝癌累及IVC的发病率虽然没有肝癌合并门静脉癌栓的发病率高(44.0%-62.2%)^[8,9], 文献报道有3%-10%的肝癌伴有IVC癌栓^[10-13], 但尸检发现肝癌经肝静脉扩展到IVC的发生率高达20%, 因此累及IVC的肝癌是肝癌治疗的一个不容忽视的重要问题。

1.2 病理类型 Hemming等^[14]报道了60例累及IVC的肝癌, 其中胆管细胞癌26例、HCC 16例、结肠癌肝转移13例、胃肠间质瘤2例、肝胚细胞瘤2例、鳞状细胞癌1例。Delis等^[15]报道了12例肝切除联合部分IVC切除患者, 其中HCC 4例, 结肠癌肝转移6例, 胆管细胞癌2例。另有Sarmiento等^[5]报道19例肝切除联合部分IVC切除, 病理诊断胆管细胞癌9例, 结肠癌肝转移3例, IVC或腹膜后肉瘤侵犯肝脏3例, HCC 2例, 其他的转移性肝癌2例。从文献看胆管细胞癌、肝细胞癌及结肠癌肝转移较易侵及IVC。

1.3 原发灶侵入下腔静脉的方式 主要包括局部压迫和静脉内癌栓形成两种方式。当肝癌原发灶巨大时, 可以压迫IVC, 引起IVC梗阻。IVC的癌栓形成一部分为经肝静脉或肝右后下静脉侵入, 另一部分为癌栓沿IVC管腔生长。文献报道来源于肝右静脉的癌栓较肝中及肝左静脉的发生率高^[16], 该类癌栓主要病理类型为坏死型, 易于从静脉壁上剥离, 经静脉残端或静脉切开创出简单可行, 也可行局部血管切除^[17]; 如癌栓为膨胀性生长, 则IVC局部增粗, 边缘不规则^[18], 此类癌栓称为增殖型癌栓, 难以剥脱。

2 手术治疗

2.1 术前诊断 当患者肝脏肿瘤巨大, 或表现出肝硬化, 肝功能不全等并发症, 诸如腹胀、腹水、下肢水肿、门静脉高压、继发布加综合征时都应想到有IVC受累的可能。

彩超主要表现为IVC狭窄和/或腔壁不规则, 但对小的腔内癌栓或仅有腔壁侵袭难以判断。CT显示IVC内癌栓多为低密度或等密度, 少数因癌栓内出血表现为高密度; 增强CT表现为IVC内低密度充盈缺损。有时可出现IVC壁环状

强化, 组织学证实其为IVC的滋养血管强化^[18]。MRI示癌栓密度与主瘤相同, 增强可见肿瘤边缘及内部结构, 其在判断癌栓与肝肿瘤的连续性、与IVC之间的位置关系比CT好, 被视为检查肝癌累及IVC的首选影像学方法。MRI在矢状位判断受累IVC的上极更有效, IVC造影可显示IVC受压变形或充盈缺损, 在判断受累的IVC下极较为有效^[19]。

2.2 手术评估 肝癌切除术后的主要风险及死亡原因是肝功能衰竭^[20], 而肝功能衰竭的重要原因在于术后残肝不足、术中大量输血及术后感染等并发症^[21]。因此必须重视肝脏切除术前肝脏储备功能的评估^[22]。对于合并IVC癌栓的肝癌患者, 手术风险加大, 更应在术前准确评估肝储备功能以降低术后肝衰的风险。

2.2.1 Child-Pugh分级: 临床上最为常用的肝功能评估指标。该分级包括总胆红素、白蛋白及凝血酶原时间、腹水、肝性脑病5个指标。将患者的肝功能状况分为A、B、C 3级: A级患者对肝切除的手术耐受性良好, B级经过充分准备后可以耐受手术但风险大, C级患者禁行肝切除。此分级系统是评价肝脏储备功能的最简便易行的指标, 刘合利等^[23]报道临床把握手术条件的考量标准是: 只要患者白蛋白正常, 无腹水和黄疸, 肿瘤局限, 患者健侧肝脏代偿良好, 大多可以安全耐受肝切除手术, 但Child-Pugh分级的缺点在于不能评估可以安全切除肝实质的量。

2.2.2 吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)排泄率与ICGR15: ICG排泄率反应肝细胞代谢功能, 被用来评估肝脏的动态功能^[24]。Makuuchi等^[21]提出通过测量腹水、总胆红素水平以及ICGR15(ICG 15 min的滞留率)3个指标来决定手术是否安全可行: 前两个指标决定手术的可行性, 第3个指标决定术中可切除的最大的肝脏体积: 当患者的ICGR15值处于<10%, 10%-20%, 20%-30%以及>30%时, 患者分别可以行三叶或两叶切除, 单叶切除, 单独肝段切除及限制性肝切除。Lam等^[25]提出ICGR15<14%可作为判断肝硬化患者是否施行肝切除手术的标准之一, Child A级患者<14%手术安全可行^[26]。

2.2.3 3D虚拟肝脏手术重建系统: 基于断层图像数据进行3D重建而生成的肝胆系统数字三维视图, 可全景式真实再现个体病例的肝脏病变形态和解剖结构, 有助于外科医生从整体上、多方位观察评估病灶与重要脉管结构的关系^[27]。术者可对肿瘤精确定位, 直观地观察病变部位的

■ 研发前沿

本文探讨了肝癌累及腔静脉癌栓的临床诊断, 手术治疗及术后远期生存率, 回顾了近几年非手术治疗及手术治疗的

■相关报道

目前国内外关于肝癌合并腔静脉癌栓的文献报道较多,这些报道都是通过系统的临床研究所得出的结论,所以对我临床工作有一定的指导作用。

特点,提供肝脏容量分析和虚拟手术操作,彻底切除目标病灶,最大限度减少肝组织损伤和出血、确保剩余肝脏结构的完整和功能的代偿^[28]。

随着精准肝切除术理念的提出^[29],外科医生越来越重视精确的术前评估,各项检查如多排螺旋CT、动脉造影CT、经动脉门静脉造影CT、高场强MRI、超声造影等高分辨影像手段能检出肝脏病变与腔静脉之间的关系,从而显著提高了对肝脏病变评估的精确性。

2.3 手术治疗 术前判定能完全切除肿瘤并清除癌栓,心肝肾肺功能良好能耐受手术,同位素扫描和肺CT证实无远处转移可行手术治疗^[30]。手术治疗的原则即原发灶完整切除、瘤栓取出,同时有效的防止出血及空气栓塞。

2.3.1 前入路绕肝提拉法肝切除术:前入路肝切除又称“原位肝切除”或“逆行肝切除”,指在肝切除术中,先行入肝和出肝血流阻断、完全横断肝实质,最后分离肝周韧带移除肿瘤^[31],与传统肝切除方法比较,该法优点在于:(1)肝脏切除过程中减少对肿瘤的挤压,使医源性肿瘤脱落转移或血行转移机会大大降低;(2)在肝肿瘤切除前,先切断病变肝脏的出入血流及胆管,避免了术中血行转移的可能;(3)增加了肝癌切除率,使累及横膈、腹后壁、右肾上腺或与这些组织紧密黏连的肝癌患者得到了肿瘤切除机会;(4)在肝切除过程中无需反复翻转肝脏,减少肝实质的缺血,最大程度保持残肝功能;同时避免了大量出血造成的术后肝功能损害。该法主要适用于:右肝巨大肿瘤(>10 cm);肝巨大肿瘤与膈肌、肾上腺、肾被膜等浸润;合并有右肝静脉、门静脉右支癌栓。对IVC受累的肝癌患者,手术过程中应尽量减少对肿瘤的挤压,结合肝后隧道的建立^[32],运用绕肝提拉技术将正中裂断面提起,可以有效的保护IVC,保证了断肝在最短的界面上进行,减少了不必要的肝组织损伤。

2.3.2 累及IVC的肝癌肝切除时血流阻断技术的选择:我国肝癌合并肝硬化者高达85%^[33],肝脏对缺血、缺氧敏感性增加,因此选择恰当的肝血流阻断方式,在减少术中出血量同时,最大限度地减少肝脏缺血性损伤,是肝脏外科的关键问题之一^[34]。Pringle法全肝入肝血流阻断法阻断了门静脉及肝动脉的入肝血流,其优点在于操作简便易行,无需过多解剖肝门^[35],但需要严格控制阻断时间,否则会导致时间依赖性肝脏缺血损伤。正常肝脏常温下持续缺血可达90 min,

间歇性缺血可达到120 min,在合并活动性肝炎或肝硬化的情况下,肝脏热缺血持续时间超过15 min即可发生肝功能的严重损伤。选择性入肝血流阻断:避免健侧肝缺血,减轻肠系膜的血流淤滞和静脉高压,进而减少肠道菌群易位和肠道内毒素产生,加快术后肝功能恢复^[36]。半肝血流完全阻断法:该法结合选择性出、入肝血流阻断与绕肝提拉法,阻断了残肝的交通支血液供应,切肝时向上提起绕肝提拉带,从容解剖肝静脉,分离结扎肝短静脉,避免损伤IVC,基本达到无血肝切除。姜洪池等^[37]认为肝切除术中每一种肝血流阻断方法都有其应用价值,阻断方法的合理选择由肿瘤大小、位置、术前肝功状况、心脑血管状态等因素综合决定,其中最重要的是术者手术经验及权衡利弊的能力。

2.3.3 下腔静脉取栓:依据癌栓所在部位不同分为以下几种情况:(1)在IVC鞘外直接分离肿瘤^[38]:部分肝癌累及IVC的标本,病理发现IVC没有受侵犯,可以不必切除或切开IVC。用手指直接将肿瘤从IVC表面推开或打开IVC外鞘,在鞘下分离肿瘤即可;(2)IVC切开取栓^[6]:手指阻断或血管钳阻断IVC后,切开血管,以吸引器吸出癌栓,并冲出残余的肿瘤组织;(3)IVC壁局部切除^[39]:当受累的IVC范围局限时用萨氏钳或心耳钳钳夹正常IVC壁后将受累IVC与肿瘤一并切除;(4)IVC血管段切除术^[15,38,40],当IVC受累范围较大时行IVC血管切除及置换。

2.3.4 肝脏原发灶切除与IVC处理的顺序:肝脏原发灶切除和IVC取栓的顺序存在较大争议。Nonami等^[41]认为:(1)先行肝原发灶切除后行全肝血流阻断取栓,此时癌栓脱落引起肿瘤播散和肺栓塞的风险增加;(2)在全肝血流阻断下同时行肝原发灶切除和癌栓清除,但此时肝脏血流阻断时间延长,影响术后肝功的恢复;(3)先全肝血流阻断下取癌栓,然后恢复肝血流行原发灶切除,此时癌栓脱落机会少,肝缺血时间短,应提倡。也有人认为肿瘤切除后肝后IVC可得到良好的暴露,此时切开取栓操作方便,在条件允许的情况下尽量先切除肝脏肿瘤后行IVC取栓^[40]。

2.3.5 术后并发症:术后并发症根据不同文献报道发生率不同,但主要包括胆漏、腹水、胸腔积液、切口感染、气胸、上消化道出血等^[10,14,16,42],一般经对症处理即可恢复。术后死亡的原因近期为肝功能衰竭、肺并发症、胆汁淤积、败血症;远期为肿瘤复发^[38,40,43]。

3 非手术治疗

文献报道国内外学者尝试通过化疗、放疗、肝动脉栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)和沙利度胺等非手术治疗来提高患者的生存率: Chern等^[44]报道了26例接受TACE治疗的累及下腔静脉的肝癌患者, 中位生存期为4.2 mo; Sugiyama等^[45]报道15例肝癌合并IVC侵犯患者接受放疗治疗, 中位生存期为10 mo, Zeng等^[46]报道了136例肝癌合并肝静脉或IVC受侵的患者接受放疗, 中位生存期为9.7 mo. 郝明志等^[47]报道TACE联合沙利度胺治疗中晚期肝癌能够显著延长患者疾病进展时间与生存期, 且TACE次数与预后相关. 还有包括免疫治疗, 基因治疗, 靶向治疗等生物疗法仍处于临床摸索阶段^[48].

4 累及IVC肝癌的远期疗效

自1988年Iwatsuki等^[49]首次报道手术治疗肝癌合并下腔静脉癌栓以来, 该种术式逐步走向成熟, 取得了良好效果: Sarmiento等^[5]在2003年报道了19例肝癌合并腔静脉癌栓患者行肝脏肿瘤切除, 腔静脉癌栓取出术, 其中位生存期为38 mo, 5年生存率达到21%, 无复发生存期为11.5 mo. 2013年Hemming等^[14]报道了60例患者行原发病灶切除及腔静脉癌栓取出, 中位随访期31 mo, 14名患者在22-44 mo之间死于原发灶的复发, 平均1年和5年生存率为89%和35%; Wang等^[10]对56例肝癌合并腔静脉癌栓的患者进行了回顾性分析, 将患者分为手术组(25例)、TACE组(20例)及对症治疗组(11例), 结果手术组1年, 3年和5年生存率分别为68.0%, 22.5%和13.5%, 中位生存期19 mo; TACE组1年和3年生存率分别为15.0%和5.0%, 中位生存期4.5 mo; 对症治疗组生存期均未超过1年, 平均生存期5 mo.

5 结论

肝切除目前仍是治疗肝脏肿瘤的首选和最有效的方法^[50]. 对于侵犯下腔静脉的肝癌, 尽管手术治疗的风险大, 难度大, 但是手术治疗可明显提高生存率, 因此对条件满足的该类患者实施肿瘤切除及IVC切开取栓是安全可行的.

6 参考文献

- 1 Le Treut YP, Hardwigsen J, Ananian P, Saisse J, Grégoire E, Richa H, Campan P. Resection of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the

major vasculature. A European case-control series. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 855-862 [PMID: 16769542 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.12.011]

- 2 Truty MJ, Vauthey JN. Surgical resection of high-risk hepatocellular carcinoma: patient selection, preoperative considerations, and operative technique. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1219-1225 [PMID: 20405326 DOI: 10.1245/s10434-010-0976-5]
- 3 Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK, Ikai I, Nagorney DM, Belghiti J, Kianmanesh R, Ng IO, Curley SA, Yamaoka Y, Lauwers GY, Vauthey JN. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma with major portal or hepatic vein invasion: results of a multicenter study. *Surgery* 2005; 137: 403-410 [PMID: 15800485 DOI: 10.1016/j.surg.2004.12.012]
- 4 Chu MW, Aboguddah A, Kraus PA, Dewar LR. Urgent heart surgery for an atrial mass: metastatic hepatocellular carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: 931-933 [PMID: 11565692 DOI: S0003-4975(00)02409-7]
- 5 Sarmiento JM, Bower TC, Cherry KJ, Farnell MB, Nagorney DM. Is combined partial hepatectomy with segmental resection of inferior vena cava justified for malignancy? *Arch Surg* 2003; 138: 624-630; discussion 630-631 [PMID: 12799333 DOI: 10.1001/archsurg.138.6.624]
- 6 Okada Y, Nagino M, Kamiya J, Yamamoto H, Hayakawa N, Nimura Y. Diagnosis and treatment of inferior vena caval invasion by hepatic cancer. *World J Surg* 2003; 27: 689-694 [PMID: 12732990 DOI: 10.1007/s00268-003-6908-9]
- 7 Ohwada S, Tanahashi Y, Kawashima Y, Satoh Y, Nakamura S, Kobayashi I, Ohya T, Ishikawa S, Ohtaki A, Iino Y. Surgery for tumor thrombi in the right atrium and inferior vena cava of patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 1994; 41: 154-157 [PMID: 8056404]
- 8 白爱国, 郑传胜. 肝癌门静脉癌栓的介入治疗. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 489-492
- 9 Seno H, Ito K, Kojima K, Nakajima N, Chiba T. Efficacy of an implanted drug delivery system for advanced hepatocellular carcinoma using 5-fluorouracil, epirubicin and mitomycin C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 811-816 [PMID: 10482435 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.01956.x]
- 10 Wang Y, Yuan L, Ge RL, Sun Y, Wei G. Survival benefit of surgical treatment for hepatocellular carcinoma with inferior vena cava/right atrium tumor thrombus: results of a retrospective cohort study. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 914-922 [PMID: 22956071 DOI: 10.1245/s10434-012-2646-2]
- 11 Lee IJ, Chung JW, Kim HC, Yin YH, So YH, Jeon UB, Jae HJ, Cho BH, Park JH. Extrahepatic collateral artery supply to the tumor thrombi of hepatocellular carcinoma invading inferior vena cava: the prevalence and determinant factors. *J Vasc Interv Radiol* 2009; 20: 22-29 [PMID: 19026566 DOI: 10.1016/j.jvir.2008.09.030]
- 12 Florman S, Weaver M, Primeaux P, Killackey M, Sierra R, Gomez S, Haque S, Regenstein F, Balart L. Aggressive resection of hepatocellular carcinoma with right atrial involvement. *Am Surg* 2009; 75: 1104-1108 [PMID: 19927515]
- 13 Chang JY, Ka WS, Chao TY, Liu TW, Chuang TR, Chen LT. Hepatocellular carcinoma with intra-atrial tumor thrombi. A report of three cases responsive to thalidomide treatment and literature review.

■创新盘点

本文综合阐述了肝癌合并腔静脉癌栓的术前诊断, 手术评估, 不同手术方式选择, 术后生存率, 对比分析了手术及非手术治疗的远期疗效, 可以指导临床医生对治疗方案的选择, 有助于拓宽临床医生的诊疗思路.

■应用要点

本文通过对比介绍不同治疗方案在肝癌合并腔静脉癌栓治疗方面的不同疗效,重点阐述了手术治疗相关的术前准备,术中不同术式抉择及术后并发症,使临床医生对合并腔静脉癌栓的肝癌的治疗有了初步的认知。

- Oncology 2004; 67: 320-326 [PMID: 15557794 DOI: 10.1159/000081333]
- 14 Hemming AW, Mekeel KL, Zendejas I, Kim RD, Sicklick JK, Reed AI. Resection of the liver and inferior vena cava for hepatic malignancy. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 115-124 [PMID: 23376028 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.12.003]
- 15 Delis SG, Madariaga J, Ciancio G. Combined liver and inferior vena cava resection for hepatic malignancy. *J Surg Oncol* 2007; 96: 258-264 [PMID: 17443739 DOI: 10.1002/jso.20794]
- 16 王义, 陈汉, 孙延富, 尉公田, 林川, 姜小清, 吴孟超. 肝癌合并下腔静脉癌栓11例的外科治疗体会. *中华普通外科杂志* 2003; 18: 394-396
- 17 李汉贤, 赵晓春. 原发性肝癌合并门静脉、下腔静脉癌栓的肝叶切除术. *中国肿瘤临床* 1998; 25: 511-513
- 18 许树林. 肝癌下腔静脉癌栓14例CT诊断体会. *医学理论与实践* 1998; 11: 405-406
- 19 Miyazaki M, Ito H, Nakagawa K, Shimizu H, Yoshidome H, Shimizu Y, Ohtsuka M, Togawa A, Kimura F. An approach to intrapericardial inferior vena cava through the abdominal cavity, without median sternotomy, for total hepatic vascular exclusion. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 1443-1446 [PMID: 11677982]
- 20 Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg* 2000; 135: 1353-1358 [PMID: 11074895 DOI: 10.1001/archsurg.135.11.1353]
- 21 Makuuchi M, Sano K. The surgical approach to HCC: our progress and results in Japan. *Liver Transpl* 2004; 10: S46-S52 [PMID: 14762839 DOI: 10.1002/lt.20044]
- 22 郭武华, 张吉翔. 肝癌综合治疗的现状. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2199-2203
- 23 刘合利, 杨连粤. 根据术前肝脏储备功能选择肝切除方式. *肝胆外科杂志* 2007; 15: 87-88
- 24 Moody FG, Rikkers LF, Aldrete JS. Estimation of the functional reserve of human liver. *Ann Surg* 1974; 180: 592-598 [PMID: 4413286 DOI: 10.1097/00000658-197410000-00024]
- 25 Lam CM, Fan ST, Lo CM, Wong J. Major hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with an unsatisfactory indocyanine green clearance test. *Br J Surg* 1999; 86: 1012-1017 [PMID: 10460635 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01204.x]
- 26 Lau H, Man K, Fan ST, Yu WC, Lo CM, Wong J. Evaluation of preoperative hepatic function in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *Br J Surg* 1997; 84: 1255-1259 [PMID: 9313707 DOI: 10.1002/bjs.1800840917]
- 27 Saito S, Yamanaka J, Miura K, Nakao N, Nagao T, Sugimoto T, Hirano T, Kuroda N, Iimuro Y, Fujimoto J. A novel 3D hepatectomy simulation based on liver circulation: application to liver resection and transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1297-1304 [PMID: 15846773 DOI: 10.1002/hep.20684]
- 28 廖雯俊. 3D虚拟肝脏技术在精准肝脏切除中的应用价值. *中国肿瘤临床* 2010; 37: 1077-1080
- 29 董家鸿, 杨世忠. 精准肝切除的技术特征与临床应用. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 638-640
- 30 Arii S, Teramoto K, Kawamura T, Takamatsu S, Sato E, Nakamura N, Iwai T, Mori A, Tanaka J, Imamura M. Significance of hepatic resection combined with inferior vena cava resection and its reconstruction with expanded polytetrafluoroethylene for treatment of liver tumors. *J Am Coll Surg* 2003; 196: 243-249 [PMID: 12595053 DOI: 10.1016/S1072-7515(02)01616-2]
- 31 Lai EC, Fan ST, Lo CM, Chu KM, Liu CL. Anterior approach for difficult major right hepatectomy. *World J Surg* 1996; 20: 314-317; discussion 318 [PMID: 8661837 DOI: 10.1007/s002689900050]
- 32 Kokudo N, Imamura H, Sano K, Zhang K, Hasegawa K, Sugawara Y, Makuuchi M. Ultrasonically assisted retrohepatic dissection for a liver hanging maneuver. *Ann Surg* 2005; 242: 651-654 [PMID: 16244537 DOI: 10.1097/01.sla.0000186129.46123.81]
- 33 吴孟超, 陈汉, 沈锋. 原发性肝癌的外科治疗-附5524例报告. *中华外科杂志* 2001; 39: 25-28
- 34 Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Takahashi M, Inoue Y, Sano K, Imamura H, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008; 134: 1908-1916 [PMID: 18549877 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.091]
- 35 邱应和, 易滨, 刘辰, 罗祥基, 谭蔚峰, 于勇, 姜小清, 张柏和, 吴孟超. 三种入肝血流阻断方式肝切除的临床应用比较. *中华肝胆外科杂志* 2010; 16: 728-730
- 36 乔治, 李荣, 黎洁良, 姚咏明, 李基业, 陆连荣. 半肝与全肝入肝血流阻断下肝切除术后肠道细菌易位影响对比研究. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 878-879
- 37 姜洪池, 孙备, 张奇, 刘杰, 武林枫, 刘连新, 陆朝阳, 孟庆辉, 吴祥松, 李军. 肝癌切除术中肝血流阻断方法的临床研究. *中华外科杂志* 2008; 46: 1225-1228
- 38 Hemming AW, Reed AI, Langham MR, Fujita S, Howard RJ. Combined resection of the liver and inferior vena cava for hepatic malignancy. *Ann Surg* 2004; 239: 712-719; discussion 712-719 [PMID: 15082976 DOI: 10.1097/01.sla.0000124387.87757.eb]
- 39 王义, 陈汉, 吴孟超, 姜小清, 尉公田, 孙延富. 包括腔静脉旁部的肝尾叶切除术. *中华外科杂志* 2002; 40: 268-270
- 40 Hemming AW, Langham MR, Reed AI, van der Werf WJ, Howard RJ. Resection of the inferior vena cava for hepatic malignancy. *Am Surg* 2001; 67: 1081-1087; discussion 1081-1087 [PMID: 11730225]
- 41 Nonami T, Nakao A, Harada A, Kaneko T, Kurokawa T, Takagi H. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma with a tumor thrombus extending to inferior vena cava. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 798-802 [PMID: 9222693]
- 42 彭淑牖, 蔡秀军, 牟一平, 洪德飞, 许斌, 钱浩然, 刘颖斌, 方河清, 李江涛, 王建伟. 肝癌合并下腔静脉癌栓的外科治疗. *中华外科杂志* 2006; 44: 878-881
- 43 Lodge JP, Ammori BJ, Prasad KR, Bellamy MC. Ex vivo and in situ resection of inferior vena cava with hepatectomy for colorectal metastases. *Ann Surg* 2000; 231: 471-479 [PMID: 10749606 DOI: 10.1097/0000658-200004000-00004]
- 44 Chern MC, Chuang VP, Cheng T, Lin ZH, Lin YM. Transcatheter arterial chemoembolization for advanced hepatocellular carcinoma with inferior vena cava and right atrial tumors. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008; 31: 735-744 [PMID: 18427894 DOI: 10.1007/s00270-008-9342-4]
- 45 Sugiyama S, Beppu T, Ishiko T, Takahashi M, Masuda T, Hirata T, Imai K, Hayashi H, Takamori H, Kanemitsu K, Hirota M, Murakami R, Baba Y, Oya N, Yamashita Y, Baba H. Efficacy of radiotherapy for PV and IVC tumor thrombosis in unresectable HCC. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1779-1782 [PMID: 18019717]
- 46 Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, Zhou J, Wang JH, Wang BL, Guo W. Prognostic factors for patients with

- hepatocellular carcinoma with macroscopic portal vein or inferior vena cava tumor thrombi receiving external-beam radiation therapy. *Cancer Sci* 2008; 99: 2510-2517 [PMID: 19032365 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00981.x]
- 47 郝明志, 林海澜, 陈强, 吴晖, 余文昌, 陈唐庚, 沙利度. 胺联合肝动脉栓塞化疗治疗原发性肝癌随机对照研究. *癌症* 2007; 26: 861-865
- 48 刘蒙, 董卫国. 原发性肝癌非手术治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1224-1228
- 49 Iwatsuki S, Todo S, Starzl TE. Right trisegmentectomy with a synthetic vena cava graft. *Arch Surg* 1988; 123: 1021-1022 [PMID: 2969230 DOI: 10.1001/archsurg.1988.01400320107023]
- 50 沈世强, 陈祖兵. 原发性肝癌的治疗决策. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3477-3479

■同行评价

本文内容客观全面, 逻辑性较强, 较好地反映了国内外该领域的研究进展, 具有重要的临床指导意义和科学价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预

包春辉, 窦传字, 徐斌, 刘慧荣, 吴焕淦

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因不明的慢性非特异性肠道炎症性疾病。近年来, IBD在我国发病率显著上升, 已成为消化系统常见病。但该病的病因和发病机制尚不十分清楚。

包春辉, 窦传字, 上海中医药大学 上海市 201203
徐斌, 南京中医药大学针药结合省部共建重点实验室 江苏省南京市 210029
刘慧荣, 吴焕淦, 上海市针灸经络研究所 上海市 200030
包春辉, 博士生, 主要从事针灸治疗胃肠疾病的临床与基础的研究。
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2009CB522900
国家自然科学基金项目资助, No. 81173331
上海市卫生局项目基金资助项目, No. 20124028
作者贡献分布: 本文综述由包春辉完成; 窦传字参与修改; 徐斌与刘慧荣提出了修改意见; 吴焕淦负责审校。
通讯作者: 吴焕淦, 教授, 200030, 上海市宛平南路650号, 上海市针灸经络研究所. wuhuangan@126.com
电话: 021-64644238
收稿日期: 2013-04-26 修回日期: 2013-06-24
接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment

Chun-Hui Bao, Chuan-Zi Dou, Bin Xu, Hui-Rong Liu, Huan-Gan Wu

Chun-Hui Bao, Chuan-Zi Dou, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
Bin Xu, Key Laboratory of Integrated Acupuncture and Drugs Constructed by Chinese Ministry of Education and Jiangsu Province, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hui-Rong Liu, Huan-Gan Wu, Shanghai Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China
Supported by: the National Key Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522900; the National Natural Sciences Foundation of China, No.81173331; and the Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20124028

Correspondence to: Huan-Gan Wu, Professor, Shanghai Institute of Acupuncture and Meridian, 650 Wanping South Road, Shanghai 200030, China. wuhuangan@126.com
Received: 2013-04-26 Revised: 2013-06-24
Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

Inflammatory bowel disease is a chronic recurrent intestinal inflammatory disorder. The role of dysfunction of brain-gut interactions in the pathogenesis of IBD has recently been intensively investigated. Numerous studies have shown that the central nervous system, the hypothalamus - pituitary - adrenal axis (HPA axis), the

hypothalamus - the autonomic nervous system axis (HANS axis), and intestinal response functions develop varying degrees of dysfunction in IBD patients and are closely related to disease activity. It has been proven that acupuncture and moxibustion therapy is an effective means for the treatment of IBD, and the holistic regulation of the function of brain-gut interactions may be the key effect mechanism of acupuncture and moxibustion treatment in IBD. In this paper, we aim to explain the mechanism of brain-gut interactions in IBD as well as traditional Chinese medicine theory on brain-gut interactions, and on this basis, we explore the possible mechanism of acupuncture and moxibustion treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Brain-gut interactions; Moxibustion

Bao CH, Dou CZ, Xu B, Liu HR, Wu HG. Brain-gut interactions and inflammatory bowel disease: Implications for acupuncture and moxibustion treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2300-2307
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2300.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2300>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不十分清楚的慢性、复发性肠道炎症性疾病。近年来脑肠互动在IBD发病中的作用越来越受到重视。大量研究表明, IBD患者中枢神经系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)、下丘脑-自主神经系统轴(HANS轴)与肠道应答功能均存在不同程度的失调, 并且与疾病活动度密切相关。业已证实, 针灸是治疗IBD的有效手段, 通过对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制。因此, 本文旨在阐释IBD脑肠互动机制以及中医理论对脑肠互动的认识, 并在此基础上对针灸的干预机制作初步探讨。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 炎症性肠病; 脑肠互动; 针灸

■同行评议者

陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科; 白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

核心提示: 脑肠互动功能失调是炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病的重要机制, 对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制。

包春辉, 窦传宇, 徐斌, 刘慧荣, 吴焕淦. 炎症性肠病的脑肠互动及针灸干预. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2300-2307
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2300.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2300>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种疾病, 是一组病因不明的慢性非特异性肠道IBD. 过去IBD以欧美国家多见, 我国发病率较低, 但近年来, IBD在我国发病率显著上升, 已成为消化系统的常见病^[1,2]. 目前IBD的病因和发病机制尚不明确, 越来越多的研究表明脑肠互动功能失调在IBD的发生和发展中占有重要地位^[3-5]. 而已有证据证明针灸是治疗IBD的有效手段^[6-9], 对脑肠互动功能的整体调节可能是针灸治疗IBD的关键效应机制. 因此, 本文拟从脑肠互动的角度着手, 阐释IBD的发病机制并初步探讨针灸干预机制。

1 脑肠互动与IBD

神经系统与胃肠道的交互调控主要通过3个层次来实现: (1)中枢神经系统(central nervous system, CNS): 接受内外环境变化时传入的各种信息, 经过整合, 由迷走神经、交感神经、盆腔神经和神经-内分泌系统将其调控信息传送到肠神经系统和胃肠效应组织. 同时, 胃肠感觉信号亦可通过外在初级传入神经元经脊髓和迷走神经通路传入CNS; (2)自主神经系统: 包括交感神经和副交感神经, 接收CNS和胃肠信号的双重输入, 但也可直接对胃肠道进行调节; (3)肠神经系统(enteric nervous system, ENS): 是自主神经系统的第3个分支, 对CNS具有相对独立性, 接受内在初级传入神经元传入的胃肠感觉信号, 直接调节胃肠道功能. 相反, ENS也可通过投射神经元向外传递胃肠感觉到中枢神经系统和交感神经节^[10]. 这种在不同层次将胃肠道与CNS联系起来的神经-内分泌网络称为脑-肠轴(brain-gut axis). 机体通过脑-肠轴之间的神经内分泌网络的双向环路进行胃肠功能的调节称为脑肠互动^[11].

过去, 脑肠互动多用来阐释功能性胃肠病CNS与自主神经系统/ENS的内在联系. 近来大量研究表明IBD的发生和发展与脑肠互动功能的失调亦密切相关^[3-5]. IBD脑肠互动主要指CNS通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)和下丘脑-自主神经系统轴(HANS轴)与肠道应答(肠道免疫、肠道屏障、肠道菌群和ENS等)之间的双向环路对胃肠功能进行整体调节^[3].

1.1 CNS与IBD 情绪、心理、社会等因素引起机体出现应激反应, 通过CNS使中枢和内脏的敏感性失常, 从而引起胃肠道相应的功能失调. 大量研究显示, 精神心理因素直接影响IBD患者肠道炎症活动度和健康相关生活质量^[12-14]. 近年来, 脑影像学技术的出现为揭示IBD中枢发病机制提供了直观的研究手段. 采用功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)、正电子发射计算机断层扫描(positron emission tomography, PET)、脑电图、脑磁图等脑功能成像技术观察患者脑结构和功能的改变, 其中fMRI以无创性、空间分辨率高等优点被广泛应用于脑-肠轴的研究. 国外学者^[15]观察了CD患者与正常被试大脑灰质密度的差异, 结果表明CD患者部分额叶皮质和中扣带回前部灰质密度下降, 病程与大脑新皮层和边缘系统中的脑区成负相关. CD患者脑结构的改变与内脏伤害感受传入、情绪和认知加工有关. 同时, 该学者^[16]还观察了CD患者面对心理应激唤起任务时相较于正常人大脑功能活动的差异, 结果显示CD患者杏仁核、海马、脑岛、壳核、小脑等脑区血氧水平显著异常, 提示CD患者应激时自身调节能力下降, 这可能是产生和加重肠道炎症的一个重要因素. 此外, 该团队^[17]还开展了UC患者情绪视觉刺激任务的fMRI研究, 结果表明UC患者相较于正常人对积极事件敏感度降低, 杏仁核、海马、丘脑、豆状核、小脑等脑区和核团血氧信号显著降低, 提示UC患者伴有情感功能障碍, CNS的改变可能与肠道炎症表现存在交互影响. 另一项研究^[18]采用PET观察了UC、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者和正常人直肠球囊扩张刺激下脑血流量的差异, 结果显示IBS患者在边缘/旁边缘环路有更为广泛的激活, 而在UC和正常人中这些区域的激活则被右侧额叶皮层抑制, 提示慢性肠道炎症与直肠扩张刺激下内脏伤害性信息上传的增多没有必然联系。

■ 研发前沿

越来越多的研究表明脑肠互动功能失调在IBD的发生和发展中占有重要地位. 因此, 深入阐明IBD脑肠互动机制, 探索行之有效的治疗方法是亟需研究的课题。

■相关报道

IBD患者中枢神经系统、HPA轴、HANS轴与肠道应答功能均存在不同程度的失调,而针灸调节脑肠互动功能对胃肠疾病具有良好的治疗效果。

总之,IBD患者CNS相较于正常人存在结构和功能的改变,CNS功能失调与肠道异常信号之间通过脑-肠轴的相互作用在IBD的发病中至关重要。

1.2 HPA轴和HANS轴与IBD HPA轴和HANS轴作为连接CNS与胃肠道之间的桥梁,在机体应激时维持内环境稳态发挥重要作用。在IBD过程中,炎症部位细胞因子的释放可以刺激并影响下丘脑、垂体和肾上腺的细胞因子水平^[19]。HPA轴中大量的类固醇激素和交感神经递质可作为抗炎介质调节免疫/炎症反应。皮质醇是肾上腺分泌的糖皮质激素的主要组成部分,是维持机体正常代谢所必须的,是HPA轴中类固醇激素的代表,HPA轴活化时,通过释放皮质醇控制炎症的程度和持续时间。同时,皮质醇还能透过血脑屏障,到达CNS的广泛部位,尤其是神经内分泌网络的关键调节位点,如杏仁核、海马和下丘脑^[4]。HPA轴通过调节皮质醇的分泌沟通神经内分泌和免疫网络。临床体内皮质醇水平的改变与多种疾病的发生密切相关,实验研究也显示,肾上腺切除大鼠出现异常免疫应答,易于导致自身免疫性疾病的发生^[20]。业已证实,IBD患者面对外界应激时,HPA轴应答反应减退,皮质醇分泌不足^[21]。

促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)是由CNS、免疫系统和多种外周组织包括肠嗜铬细胞分泌的一种神经肽,是HPA和HANS轴重要的调节剂,同时介导机体应激和炎症反应^[22]。CRH可通过多种不同的途径促进和维持肠道炎症反应,如在肠道中作为一种促炎症因子,诱导巨噬细胞和淋巴细胞产生和释放白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-2和IL-6等多种致炎因子,加重肠道炎症^[23];刺激肥大细胞脱颗粒,引起多种介质的释放,导致肠黏膜屏障的通透性增加,使多种生物大分子和抗原进入肠腔,引起免疫级联反应^[24];通过烟碱和肾上腺素能受体介导肠道水和电解质转运障碍,导致肠功能紊乱^[25]。

多项研究表明,HANS轴中自主神经功能紊乱与IBD患者的病情密切相关^[26-30]。自主神经系统可通过分泌神经递质,调节肠道炎症反应,而肠道炎症信号也能通过脑肠轴上传,反馈调节自主神经功能。IBD患者自主神经系统功能平衡破坏,交感神经活性明显增高而副交感神经活性相对低下^[31]。近年来,心率变异性(heart rate variability, HRV)作为衡量自主神经功能状态的

指标被广泛应用于IBD中。HRV是通过刺激受试者自主神经系统来检测其心率变化,从而来反应受试者自主神经功能状态的一种无创性技术,其中标准化低频功率(LF/TP-VLF)反应交感神经功能情况的指标,而标准化高频功率(HF/TP-VLF)反应迷走神经功能情况的指标^[31]。研究显示,与正常人相比,UC患者HF/TP-VLF显著降低^[32],LF/TP-VLF显著增高^[33],提示交感神经活动增强,迷走神经功能活动减弱,但与疾病活动度不相关,而CD患者自主神经活性与正常人比较无明显差异^[34]。此外,也有报道指出,HRV参数的改变与IBD患者积极的或消极的情绪有关。研究显示,与正常人比较,伴有积极情绪的CD患者LF/TP-VLF显著增高且HF/TP-VLF显著降低而伴有消极情绪的UC患者HF/TP-VLF显著降低。提示CD患者的积极情绪引起其交感神经活动增强;UC患者的消极情绪引起其副交感神经活动减弱,而保持积极情绪的UC患者自主神经功能活动维持平衡^[35]。

在IBD初期,HPA轴和HANS轴能以平行的方式通过神经和体液调节减轻炎症。随着炎症的发展,外周血皮质醇水平降低而神经肽Y(交感神经活性指标)含量升高,皮质醇和神经肽Y含量呈负相关,提示HPA轴活性被抑制,自主神经系统处于兴奋状态,两轴失去协同作用,出现HPA轴和HANS轴解耦联现象^[36]。因此,重建HPA轴和HANS轴的协调作用,并通过两轴的双向环路调节CNS和胃肠道的功能,在IBD的治疗中尤为重要。

1.3 肠道应答与IBD 大量研究表明,IBD是肠道异常应答(肠道免疫调节异常、肠黏膜屏障损伤、肠内菌群失衡、ENS功能失调等)、遗传、精神和环境等多种因素共同作用的结果,其中免疫功能紊乱是IBD发病的中心环节^[37]。

既往一直认为,Th1/Th2细胞之间相互作用失衡引起IBD机体自身免疫紊乱,肠黏膜发生炎症反应是IBD发病的核心机制。CD主要表现为Th1细胞介导的细胞免疫应答,以表达IL-12、干扰素- γ (interferon, IFN- γ)为主;UC主要表现为Th2细胞介导的体液免疫应答,以表达IL-4、IL-5、IL-10为主,多项研究从不同水平证实了这一观点^[38-39]。但近年来,Th17细胞和IL-23/IL17轴的发现拓宽了对IBD免疫机制的认识,解释了传统Th1/Th2轴中异常现象发生的原因。研究证实,在转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和IL-6同时大量存在的情况下,

原始T细胞分化成Th17细胞后, IL-23可诱导其增殖, 从而使Th17细胞的主要效应因子IL-17大量产生, 发挥免疫调节作用. 当炎症存在时, IL-6或TGF- β 和IL-6同时存在可上调Th17细胞表达IL-23R, 进而促进IL-23维持并加强Th17细胞的表达^[40]. 据报道, 在IBD患者肠道黏膜组织炎症部位中IL-17和IL-23p19(IL-23的特异性亚基)mRNA的表达均显著增高, 且活动期的CD患者IL-17细胞数是正常人的20倍, 是缓解期CD患者的4倍, 另外, 通过外源性IL-23刺激, 可以促进IL-17的表达^[41,42]. 以上均证实, IL-23/IL17轴直接参与IBD的肠道炎症反应. 进一步研究发现, CD患者肠黏膜组织活检标本培养上清液及体外培养的固有层淋巴细胞均高表达IFN- γ 和IL-17, 且共表达IFN- γ 及IL-17的Th1/Th17细胞在CD患者中升高, 提示Th1和Th17细胞共同参与了CD的发病, 且两者之间可能存在协同作用^[43]. 此外, 原始T细胞除了分化为Th1、Th2和Th17细胞外, 还可分化为一类调节性T细胞(Treg细胞), 其主要作用是抑制自身反应性T细胞以维持自身免疫平衡. 其中CD4⁺CD25⁺ Treg细胞是一种功能成熟的T细胞亚群, 其数量的减少、表面分子表达的缺陷、抑制功能的受损等均可能与IBD的发生有关. 有研究表明, Th17/Treg细胞之间的分化失衡是导致肠道免疫稳态破坏的重要因素, 可能是IBD发生的原因之一^[44].

IBD患者肠道免疫紊乱, 大量的炎性因子和介质被释放, 刺激肠黏膜神经末梢, 引起ENS结构和功能表现异常, 同时, ENS也能通过神经递质和神经肽的分泌调节肠黏膜免疫反应, 两者相互影响. 研究证实, IBD患者肠黏膜中肠神经元的数目明显减少, 其中CD患者较UC患者减少的更为明显. 在TNBS实验性结肠炎模型中也证实了这一点, 在炎症期间每个神经丛中神经元的数目都减少并一直持续到炎症消退, 但神经节的数目基本没有改变. 由于严重的炎症损害出现在黏膜下层, 导致黏膜下神经元减少更为明显, 从而引起肠道收缩和黏膜转运功能发生改变, 并影响神经递质的释放. ENS中神经元数目减少是肠道炎性损伤的结果^[45]. 反之, ENS分泌的神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)、降钙素基因相关蛋白(calcitonin gene related peptide, CGRP)、胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、P物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive

intestinal peptide, VIP)、生长抑素(somatostatin, SS)等胃肠激素通过旁分泌和神经分泌调节IBD炎症的发展, 主要途径有: 影响血液供应、血管壁通透性和炎症细胞、免疫活性细胞的功能和细胞因子的分泌等, 部分神经递质对肠道发挥保护性作用, 而有的则使肠道炎症加剧^[21,46,47].

此外, 肠道菌群失衡和肠黏膜屏障损伤也是IBD发病的重要因素. 肠黏膜免疫功能紊乱, 肠道常驻菌群驱动异常免疫应答, 肠黏膜屏障损伤, 大量的抗原等生物大分子进入肠壁, 引起肠道持续性炎症反应. 因此, IBD肠道异常应答中, 肠道免疫紊乱贯穿整个IBD进程的自始至终, 而肠道菌群失衡、肠黏膜屏障破坏以及ENS分泌的神经递质失调均与肠道免疫功能交互影响, 共同参与IBD肠道应答的调控.

2 从脑肠互动的整体调节探讨针灸干预IBD机制

2.1 脑肠互动的中医理论认识及治疗

传统中医理论认为, “大肠小肠皆属于胃”, 故脑肠互动应视为脑神与脾胃之间的交互联系, 两者在生理上相互促进, 病理上相互影响. 人的精神、意识、思维等脑神的改变可影响脾胃功能, 而脾胃为后天之本且脾主升胃主降, 只有气机通畅, 气血津液生化有源, 神乃正常. 正如《灵枢·天年》中载: “胃满则肠虚, 肠满则胃虚, 更虚更满, 故气得上下, 五脏安定, 血脉和利, 精神乃居”, 《素问·六节藏象论》亦云: “五味入口, 藏于肠胃, 味有所藏, 以养五气, 气和而生, 津液相成, 神乃自生”. 同时, 脑神与脾胃之间的沟通与联系有赖于肝主疏泄功能的调节, 一方面, 通过协调脾胃气机升降, 使清阳之气得升以助脾的运化, 浊阴之气得降以助胃的受纳腐熟. 另一方面, 肝胆调达一身之气, 脑神的活动有赖于气机升降出入的正常. 《读医随笔》曰: “人之意, 神识能用者, 皆曰升降出入之通利也, 有所闭塞, 则不能用也”. 刘完素《素问玄机原病式》中道: “人之眼耳鼻舌身意, 神识能用者, 皆由升降出入之通利也”. 由此可见, 肝主疏泄功能在脑神与脾胃的相互维系中发挥重要作用. 此外, 脑神与脾胃的联系不仅仅是通过脏腑在功能上相互为用, 经络更是两者沟通的重要途径. 其中, 阳明胃经和太阴脾经与两者关系最为密切. 《重订通俗伤寒论·白虎承气汤何秀山按》云: “胃之支脉, 上络心脑, 一有邪火壅闭, 即堵其神明出入之窍, 故昏不识人”; 《灵枢·动

■创新盘点

IBD脑肠互动主要指中枢神经系统通过HPA轴和HANS轴与肠道应答之间的双向环路对胃肠功能进行调节. 对脑肠功能的整体调节是针灸治疗IBD的关键.

■应用要点

本文为针灸治疗IBD的可行性提供了实验依据以及理论基础。

输》亦云：“胃气上注于肺，其悍气上冲头者，循咽，上走空窍，循眼系，入络脑”；《东垣试效方》更明确指出：“足阳明之别络于脑”。在《灵枢·经脉》中有：足太阴“其支者，复从胃别膈注心中”。太阴脾经从足走胸，阳明胃经从头走足，与中焦脾升胃降相一致。脾气上升，脾经亦上行，故经气上升太过与不及均可致心神紊乱；胃气下降，胃经亦下行，导心气下达，使浊气外出，从而维持心神的安宁。

因此，基于中医理论对脑肠互动的认识，从整体上对脑肠互动进行调节是治疗的关键，针灸疗法具有整体调节作用的特征，临床治疗讲究调理脾胃和调畅情志并重，在选用健脾和胃的穴位同时，配用养心安神、疏肝理气的穴位以加强针灸的临床疗效。

2.2 从现代医学角度探讨针灸调节IBD脑肠互动机制 现代研究已证实，针灸治疗IBD疗效肯定^[6-9]。针灸通过对脑肠互动的整体调节来达到改善IBD肠道炎症的目的，主要表现在对CNS、HPA轴和HANS轴、肠道应答3方面的调节，但目前研究多集中在对肠道应答的调节。

2.2.1 针灸对IBD肠道应答的调节：大量研究显示，针灸对IBD肠道炎症因子、肠黏膜屏障、肠道菌群、肠神经递质等均有显著调节作用。如针灸可明显下调CD患者肠黏膜异常增高的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及其受体TNFR1和TNFR2的含量，抑制结肠上皮细胞凋亡^[8]，减少UC患者结肠黏膜慢性炎细胞浸润，增加杯状细胞数量，恢复粘蛋白比例，减少隐窝脓肿和溃疡，改善结肠黏膜形态^[48]；下调结肠黏膜IL-8、细胞间粘附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)及其mRNA的表达^[9]；抑制结肠上皮细胞人类白细胞抗原DR等位基因(human leukocyte antigen-DR, HLA-DR)的表达^[49]。实验研究也发现针灸可显著下调CD大鼠结肠组织异常增高的TNF- α 及受体TNFR1、IL-8、ICAM-1、E-选择素的含量^[50-52]；降低P物质、神经激肽1受体的异常表达^[53]；抑制结肠上皮细胞凋亡，增加结肠上皮细胞间紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1表达^[54]；下调UC大鼠促炎性细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及其mRNA的含量，促进中性粒细胞凋亡^[55]；抑制结肠上皮细胞过度凋亡^[56]；调节肠道菌群失衡^[57]，从而减轻肠道炎症反应，改善组织损伤，修复肠黏膜屏障，发挥治疗作用。

2.2.2 针灸对CNS、HPA轴和HANS轴的调节：近

年来，采用脑功能成像技术，已经证实针灸对胃肠疾病CNS具有明显的调节作用，研究显示针灸对与内脏调节密切相关的边缘系统功能活动的调节可能是针灸效应的重要机制^[58-60]。此外，针灸还可调节自主神经功能，恢复交感/副交感神经的平衡，从而调整胃肠道功能^[61,62]。实验研究也显示，针灸能显著降低UC大鼠下丘脑、垂体和血浆 β -内啡肽的水平^[63]；同时抑制下丘脑和结肠辣椒素受体1(vanilloid receptor subtype 1, VR1)的表达^[64]；以及增加脊髓和结肠热休克蛋白70及其mRNA的表达^[65]，这些均证实针灸对中枢和外周均有调节作用，正是通过针灸的这种整体调节作用来发挥对IBD脑肠互动的调节。

3 结论

IBD中脑肠互动是CNS和肠道应答之间通过HPA轴和HANS轴进行双向调节，肠道应答的异常势必影响CNS功能活动，而CNS功能活动的失调亦会反作用于肠道，从而导致肠道炎症反应的加剧。从脑肠互动角度探讨IBD发病机制为今后临床治疗和科学研究提供新的思路。针灸具有整体调节的作用特征，通过对IBD脑肠互动的整体调节，真正从身心上治疗该病。今后的研究应注重从不同水平研究IBD脑肠互动机制及针灸干预机理，一方面，从多层次深入研究IBD脑肠互动中CNS、HPA轴和HANS轴、肠道应答3方面的交互调控机制，阐明CNS异常的功能活动是IBD的病因亦或是该病的继发性表现；另一方面，从不同角度研究针灸对IBD脑肠互动的整体调节作用，如采用脑功能成像、代谢组学等先进的技术手段，从大脑中枢异常脑区、HANS轴(心率变异性)及HPA轴功能失衡(血清/唾液皮质醇含量)等与IBD的相关性着手，深入探讨针灸治疗IBD的效应机制和作用原理，这也将成为未来针灸研究的方向。

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州). 中华内科杂志 2012; 51: 818-831
- 2 Zheng JJ, Zhu XS, Huangfu Z, Shi XH, Guo ZR. Prevalence and incidence rates of Crohn's disease in mainland China: a meta-analysis of 55 years of research. *J Dig Dis* 2010; 11: 161-166 [PMID: 20579219 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00431.x]
- 3 Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013; 144: 36-49 [PMID: 23063970 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.003]
- 4 Stasi C, Orlandelli E. Role of the brain-gut axis in the

- pathophysiology of Crohn's disease. *Dig Dis* 2008; 26: 156-166 [PMID: 18431066 DOI: 10.1159/000116774]
- 5 Hollander D. Inflammatory bowel diseases and brain-gut axis. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54 Suppl 4: 183-190 [PMID: 15075459]
- 6 Joos S, Brinkhaus B, Maluche C, Maupai N, Kohnen R, Kraehmer N, Hahn EG, Schuppan D. Acupuncture and moxibustion in the treatment of active Crohn's disease: a randomized controlled study. *Digestion* 2004; 69: 131-139 [PMID: 15114043 DOI: 10.1159/000078151]
- 7 Joos S, Wildau N, Kohnen R, Szecsenyi J, Schuppan D, Willich SN, Hahn EG, Brinkhaus B. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 1056-1063 [PMID: 16938719 DOI: 10.1080/00365520600580688]
- 8 施茵, 包春辉, 吴焱淦, 陈巍峰, 秦秀娣, 张榕, 吴璐一. 隔药灸结合针刺对克罗恩病患者肠粘膜TNF- α 、TNFR1、TNFR2表达及肠上皮细胞凋亡的影响. *上海中医药杂志* 2011; 45: 46-50
- 9 Zhou EH, Liu HR, Wu HG, Shi Z, Zhang W, Zhu Y, Shi DR, Zhou S. Down-regulation of protein and mRNA expression of IL-8 and ICAM-1 in colon tissue of ulcerative colitis patients by partition-herb moxibustion. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2198-2206 [PMID: 19083096 DOI: 10.1007/s10620-008-0620-4]
- 10 Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 286-294 [PMID: 22392290 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.32]
- 11 Mertz HR. Overview of functional gastrointestinal disorders: dysfunction of the brain-gut axis. *Gastroenterol Clin North Am* 2003; 32: 463-476, v [PMID: 12858602]
- 12 Ananthakrishnan AN, Khalili H, Pan A, Higuchi LM, de Silva P, Richter JM, Fuchs CS, Chan AT. Association between depressive symptoms and incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis: results from the Nurses' Health Study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 57-62 [PMID: 22944733 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.08.032]
- 13 Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut* 2005; 54: 1481-1491 [PMID: 16162953 DOI: 10.1136/gut.2005.064261]
- 14 Cámara RJ, Schoepfer AM, Pittet V, Bégré S, von Känel R. Mood and nonmood components of perceived stress and exacerbation of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2358-2365 [PMID: 21287671 DOI: 10.1002/ibd.21623]
- 15 Agostini A, Benuzzi F, Filippini N, Bertani A, Scarcelli A, Farinelli V, Marchetta C, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Campieri M, Nichelli P. New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 147-e82 [PMID: 22998431 DOI: 10.1111/nmo.12017]
- 16 Agostini A, Filippini N, Benuzzi F, Bertani A, Scarcelli A, Leoni C, Farinelli V, Riso D, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Nichelli P, Campieri M. Functional magnetic resonance imaging study reveals differences in the habituation to psychological stress in patients with Crohn's disease versus healthy controls. *J Behav Med* 2012 Jul 3. [Epub ahead of print] [PMID: 22752251 DOI: 10.1007/s10865-012-9441-1]
- 17 Agostini A, Filippini N, Cevalani D, Agati R, Leoni C, Tambasco R, Calabrese C, Rizzello F, Gionchetti P, Ercolani M, Leonardi M, Campieri M. Brain functional changes in patients with ulcerative colitis: a functional magnetic resonance imaging study on emotional processing. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1769-1777 [PMID: 21744432 DOI: 10.1002/ibd.21549]
- 18 Mayer EA, Berman S, Suyenobu B, Labus J, Mandelkern MA, Naliboff BD, Chang L. Differences in brain responses to visceral pain between patients with irritable bowel syndrome and ulcerative colitis. *Pain* 2005; 115: 398-409 [PMID: 15911167 DOI: 10.1016/j.pain.2005.03.023]
- 19 袁川评, 王玮, 柳巨雄. 神经-内分泌-免疫网络与炎症性肠病. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2024-2028
- 20 del Rey A, Klusman I, Besedovsky HO. Cytokines mediate protective stimulation of glucocorticoid output during autoimmunity: involvement of IL-1. *Am J Physiol* 1998; 275: R1146-R1151 [PMID: 9756545]
- 21 Mackner LM, Clough-Paabo E, Pajer K, Lourie A, Crandall WV. Psychoneuroimmunologic factors in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 849-857 [PMID: 20722061 DOI: 10.1002/ibd.21430]
- 22 Mulak A, Bonaz B. Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut interactions. *Med Sci Monit* 2004; 10: RA55-RA62 [PMID: 15260348]
- 23 Kawahito Y, Sano H, Mukai S, Asai K, Kimura S, Yamamura Y, Kato H, Chrousos GP, Wilder RL, Kondo M. Corticotropin releasing hormone in colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1995; 37: 544-551 [PMID: 7489943]
- 24 Söderholm JD, Perdue MH. Stress and gastrointestinal tract. II. Stress and intestinal barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G7-G13 [PMID: 11123192]
- 25 Santos J, Saunders PR, Hanssen NP, Yang PC, Yates D, Groot JA, Perdue MH. Corticotropin-releasing hormone mimics stress-induced colonic epithelial pathophysiology in the rat. *Am J Physiol* 1999; 277: G391-G399 [PMID: 10444454]
- 26 Mouzas IA, Pallis AG, Kochiadakis GE, Markettou M, Chlouverakis GI, Mellissas J, Vardas PE, Kouroumalis EA. Autonomic imbalance during the day in patients with inflammatory bowel disease in remission. Evidence from spectral analysis of heart rate variability over 24 hours. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 775-780 [PMID: 12546512 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80070-6]
- 27 Lindgren S, Stewenius J, Sjölund K, Lilja B, Sundkvist G. Autonomic vagal nerve dysfunction in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 638-642 [PMID: 8362220 DOI: 10.3109/00365529309096103]
- 28 Straub RH, Antoniou E, Zeuner M, Gross V, Schölmerich J, Andus T. Association of autonomic nervous hyperreflexia and systemic inflammation in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Neuroimmunol* 1997; 80: 149-157 [PMID: 9413271 DOI: 10.1016/S0165-5728(97)00150-1]
- 29 Lindgren S, Lilja B, Rosén I, Sundkvist G. Disturbed autonomic nerve function in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26: 361-366 [PMID: 2034989 DOI: 10.3109/00365529108996495]
- 30 Maule S, Pierangeli G, Cevoli S, Grimaldi D, Gionchetti P, Barbara G, Rizzello F, Stanghellini V,

同行评价

本文对于了解IBD的脑肠互动功能失调, 以及针灸治疗的可行性具有重要意义。

- Corinaldesi R, Campieri M, Cortelli P. Sympathetic hyperactivity in patients with ulcerative colitis. *Clin Auton Res* 2007; 17: 217-220 [PMID: 17574503 DOI: 10.1007/s10286-007-0425-0]
- 31 王雳, 白爱平. 植物神经功能紊乱与炎症性肠病. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3010-3014
 - 32 Sharma P, Makharria GK, Ahuja V, Dwivedi SN, Deepak KK. Autonomic dysfunctions in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 853-861 [PMID: 18712478 DOI: 10.1007/s10620-008-0424-6]
 - 33 Coruzzi P, Castiglioni P, Parati G, Brambilla V, Brambilla L, Gualerzi M, Cademartiri F, Franzè A, De Angelis G, Di Rienzo M, Di Mario F. Autonomic cardiovascular regulation in quiescent ulcerative colitis and Crohn's disease. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 964-970 [PMID: 18036030 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2007.01887.x]
 - 34 Ganguli SC, Kamath MV, Redmond K, Chen Y, Irvine EJ, Collins SM, Tougas G. A comparison of autonomic function in patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 961-967 [PMID: 17931336 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00987.x]
 - 35 Pellissier S, Dantzer C, Canini F, Mathieu N, Bonaz B. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2010; 35: 653-662 [PMID: 19910123 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.004]
 - 36 Straub RH, Herfarth H, Falk W, Andus T, Schölmerich J. Uncoupling of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in inflammatory bowel disease? *J Neuroimmunol* 2002; 126: 116-125 [PMID: 12020963 DOI: 10.1016/S0165-5728(02)00047-4]
 - 37 刘丽娜, 梁丽娜. 炎症性肠病与肠黏膜免疫调节细胞. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3181-3186
 - 38 Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M, Zeitz M, Fuss I, Strober W, Schulzke JD. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129: 550-564 [PMID: 16083712 DOI: 10.1016/j.gastro.2005.05.002]
 - 39 Matsuoka K, Inoue N, Sato T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kishi Y, Sakuraba A, Hitotsumatsu O, Ogata H, Koganei K, Fukushima T, Kanai T, Watanabe M, Ishii H, Hibi T. T-bet upregulation and subsequent interleukin 12 stimulation are essential for induction of Th1 mediated immunopathology in Crohn's disease. *Gut* 2004; 53: 1303-1308 [PMID: 15306590 DOI: 10.1136/gut.2003.024190]
 - 40 杨丽, 刘占举. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的免疫病理作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 389-394
 - 41 Abraham C, Cho J. Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1090-1100 [PMID: 19253307 DOI: 10.1002/ibd.20894]
 - 42 Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, Kitazume MT, Nakazawa A, Sugita A, Koganei K, Isobe K, Hibi T. IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 2008; 57: 1682-1689 [PMID: 18653729 DOI: 10.1136/gut.2007.135053]
 - 43 Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, Sarra M, Knowles CH, Rampton DS, Corazza GR, Monteleone G, Di Sabatino A, Macdonald TT. Differential regulation of interleukin 17 and interferon gamma production in inflammatory bowel disease. *Gut* 2009; 58: 1629-1636 [PMID: 19740775 DOI: 10.1136/gut.2009.182170]
 - 44 葛婷, 唐志鹏, 王亮, 张亚利. Th17/Treg失衡与炎症性肠病的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 689-694
 - 45 Sanovic S, Lamb DP, Blennerhassett MG. Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 1999; 155: 1051-1057 [PMID: 10514387 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65207-8]
 - 46 Delgado M, Pozo D, Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 249-290 [PMID: 15169929 DOI: 10.1124/pr.56.2.7]
 - 47 张德奎, 甘华田. 重视研究肠道神经系统在炎症性肠病发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3200-3203
 - 48 Wu HG, Zhou LB, Shi DR, Liu SM, Liu HR, Zhang BM, Chen HP, Zhang LS. Morphological study on colonic pathology in ulcerative colitis treated by moxibustion. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 861-865 [PMID: 11819709]
 - 49 吴焕淦, 谭卫林, 陈汉平, 施征, 华雪桂. 艾灸治疗溃疡性结肠炎疗效及对肠上皮细胞HLA-DR抗原的影响. *针刺研究* 1999; 1: 12-16
 - 50 Bao CH, Wu LY, Wu HG, Shi Y, Liu HR, Zhang R, Yu LQ, Wang JH. Moxibustion inhibits apoptosis and tumor necrosis factor-alpha/tumor necrosis factor receptor 1 in the colonic epithelium of Crohn's disease model rats. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2286-2295 [PMID: 22531889 DOI: 10.1007/s10620-012-2161-0]
 - 51 施茵, 吴焕淦, 秦秀娣, 谭琳莹, 张卫, 华雪桂, 张英英. 针灸对大鼠克罗恩病结肠组织E-选择素、ICAM-1表达影响的实验研究. *江西中医学院学报* 2005; 17: 37-39
 - 52 施征, 张慧, 王晓梅, 吴焕淦. 艾灸对克罗恩病大鼠结肠黏膜MCP-1和IL-8蛋白表达的影响. *上海针灸杂志* 2009; 28: 497-501
 - 53 刘慧荣, 华雪桂, 施茵, 谭琳莹, 张琳珊. 针灸对克罗恩病大鼠P物质、神经激肽1受体表达影响的研究. *上海中医药大学学报* 2005; 19: 57-60
 - 54 Bao CH, Wu LY, Shi Y, Wu HG, Liu HR, Zhang R, Yu LQ, Wang JH. Moxibustion down-regulates colonic epithelial cell apoptosis and repairs tight junctions in rats with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4960-4970 [PMID: 22174545 DOI: 10.3748/wjg.v17.i45.4960]
 - 55 Wu HG, Liu HR, Tan LY, Gong YJ, Shi Y, Zhao TP, Yi Y, Yang Y. Electroacupuncture and moxibustion promote neutrophil apoptosis and improve ulcerative colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 379-384 [PMID: 17211698 DOI: 10.1007/s10620-006-9561-y]
 - 56 Wu HG, Gong X, Yao LQ, Zhang W, Shi Y, Liu HR, Gong YJ, Zhou LB, Zhu Y. Mechanisms of acupuncture and moxibustion in regulation of epithelial cell apoptosis in rat ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 682-688 [PMID: 14991938]
 - 57 Wang XM, Lu Y, Wu LY, Yu SG, Zhao BX, Hu HY, Wu HG, Bao CH, Liu HR, Wang JH, Yao Y, Hua XG, Guo HY, Shen LR. Moxibustion inhibits interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha and modulates intestinal flora in rat with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6819-6828 [PMID: 23239920 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6819]
 - 58 Zeng F, Qin W, Ma T, Sun J, Tang Y, Yuan K, Li Y, Liu J, Liu X, Song W, Lan L, Liu M, Yu S, Gao X,

- Tian J, Liang F. Influence of acupuncture treatment on cerebral activity in functional dyspepsia patients and its relationship with efficacy. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1236-1247 [PMID: 22641307 DOI: 10.1038/ajg.2012.53]
- 59 Liu HR, Qi L, Wang XL, Guan YH, Zuo CT, Tan LY, Yuan LS, Ma XP, Wang XM, Zhou EH, Wu HG. Electroacupuncture at Tianshu (ST 25) for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome using positron emission tomography. *Neural Regen Res* 2010; 5: 1220-1225
- 60 Noguchi E. Acupuncture regulates gut motility and secretion via nerve reflexes. *Auton Neurosci* 2010; 156: 15-18 [PMID: 20663717 DOI: 10.1016/j.autneu.2010.06.010]
- 61 彭随风, 杨家耀, 时昭红. 电针改善功能性消化不良胃动力、自主神经功能及心理状态. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4105-4109
- 62 朱江, 马惠芳, 付平, 梁军, 金春兰. 通过植物神经功能状态的变化看针灸效应. *中国针灸* 2002; 22: 843-844
- 63 吴焕淦, 陈汉平, 廖柏松, 施征, 张琳珊. 隔药灸对大鼠实验性溃疡性结肠炎免疫功能及 β -内啡肽的影响. *中国针灸* 1997; 3: 163-165
- 64 口锁堂, 吴焕淦. 艾灸对溃疡性结肠炎大鼠结肠及下丘脑辣椒素受体1表达的影响. *上海针灸杂志* 2009; 28: 435-438
- 65 Qi L, Shi Y, Wu LY, Mu JP, Tan LY, Ma XP, Liu HR, Xu SF, Wu HG. Effects of moxibustion on heat-shock protein 70 expression in the spinal cord and colonic mucosa in a rat model of ulcerative colitis. *Neural Regen Res* 2010; 5: 1717-1722

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展

张毅, 黄光明

■背景资料

近年来研究发现微生物因素在炎症性肠病起病中起到了不可忽视的作用, 同时难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者中的发生率不断上升, 因此需要正确的认识两者之间的关系。

张毅, 黄光明, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

张毅, 主要从事炎症性肠病的相关研究。

作者贡献分布: 本文综述由张毅完成; 黄光明负责审校。

通讯作者: 黄光明, 副教授, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心。

hgming@njmu.edu.cn

电话: 025-58509880

收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-05-31

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-08-18

Clostridium difficile infection in patients with inflammatory bowel disease: An update

Yi Zhang, Guang-Ming Huang

Yi Zhang, Guang-Ming Huang, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Guang-Ming Huang, Associate Professor, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiaguan District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. hgming@njmu.edu.cn

Received: 2013-04-23 Revised: 2013-05-31

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-08-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) has many etiological factors, among which microbial factors have attracted more and more attention recently. Studies have demonstrated that the incidence of *Clostridium difficile* infection (CDI) in both adult and children IBD patients has been rising in recent years. Many drugs such as antibiotics, immunosuppressive agents, and acid-suppressing agents may increase the incidence of CDI. Identifying CDI and selecting effective antibiotics are keys to successful treatment, and immunological and ecological treatments are also useful choices. In this article, we will review the progress in research of CDI in IBD patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; *Clostridium difficile*; Risk factors; Laboratory testing; Treatment

Zhang Y, Huang GM. *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: An update. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2308-2314 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2308.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2308>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的病因有很多, 其中微生物因素近来越来越受到关注。研究发现难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童IBD患者中的发生率不断上升。抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂等药物可增加IBD患者发生CDI的风险, 及时检测CDI并选择有效的抗生素是治疗重点, 同时可辅以免疫及生态治疗。本文对难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 炎症性肠病; 难辨梭状芽孢杆菌; 危险因素; 实验室检测; 治疗

核心提示: 难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者中的发生率不断上升。抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂等药物可增加IBD患者发生CDI的风险, 及时检测CDI并选择有效抗生素是治疗的重点。

张毅, 黄光明. 难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2308-2314 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2308.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2308>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以反复发作的肠道慢性炎症为特征的一组疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。随着对IBD发病机制研究的不断深入, 目前发现微生物因素在其起病中起到了不可忽视的作用。近年来研究发现, 难辨梭状芽孢杆菌感染(clostridium difficile infection, CDI)在成人及儿童IBD患者中的

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

发生率不断上升^[1,2], 推测其可能与IBD存在一定关系. 本文就难辨梭状芽孢杆菌在IBD中的研究进展做一综述.

1 难辨梭状芽孢杆菌及其流行病学

难辨梭状芽孢杆菌为革兰阳性厌氧菌, 广泛存在于自然环境中, 1935年首次从一名婴儿的大便中分离出来, 因其培养与分离的困难而得名^[3]. 他是婴儿肠道内的正常菌群, 可在婴儿粪便中检测到, 但成人检出率较低.

美国疾病控制和预防中心的数据显示, CDI的发生率从1996年的31/10万增加到2003年的61/10万^[4]. 加拿大、欧洲等流行病学调查报道了相同趋势^[5,6]. Clayton等^[7]研究报道IBD患者CDI的发生率为8.2%, 较正常成人(1.0%)明显升高, 同时还发现UC患者的感染率高于CD患者, 分别为9.4%和6.9%. 同时CDI患者的死亡率也在上升, 每年估计有15000-20000例患者死于CDI^[8], Navaneethan等^[9]研究报道IBD合并CDI患者的死亡率是单纯的IBD或CDI患者死亡率的4倍.

2 发病机制

正常人体胃肠道中存在一个十分复杂的菌群, 细菌大约有1000多种^[10], 数量达 10^{14} 个左右, 他们按一定的比例和顺序定植在人体肠壁上, 形成稳定的微生态平衡. 由于抗生素等因素破坏肠道原有的生物屏障, 从而导致一些内源性细菌的过度生长或对外源性病原菌易感性的增加. 其中最常见的致病菌是难辨梭状芽孢杆菌.

难辨梭状芽孢杆菌主要分泌毒素A和毒素B, 但究竟哪种毒素起主要致病作用在学术界一直存在争议. Kuehne等^[11]通过等位基因敲除模型研究发现毒素A、毒素B可在单独或同时作用下导致感染. 但Steele等^[12]发现抗毒素B单克隆抗体联合或不联合应用抗病毒A单克隆抗体对CDI患者的治疗效果均较单纯抗毒素A单克隆抗体好, 同时单纯使用抗毒素A单克隆抗体患者死亡率较正常对照组高, 进而认为毒素B在CDI发病过程中起到更加重要的作用.

毒素A和B具有63%的同源氨基酸, 均具有葡糖转移酶, 毒素黏附在肠黏膜上皮细胞后, 通过受体介导的内吞作用进入细胞并催化葡萄糖残基结合到rho蛋白上, 触发细胞内信号分子调节细胞骨架结构和基因表达^[13]. rho蛋白糖基化导致蛋白质合成受阻, 引起细胞坏死, 从而引发一系列炎症反应, 并最终导致临床症状的出现.

3 临床表现

IBD患者感染难辨梭状芽孢杆菌后症状各异, 有些可能仅为无症状携带者. 但一般表现为腹泻、腹痛, 粪便多带有恶臭气味, 可见黏液或脓血, 常伴发热、呕吐、脱水等中毒症状^[9], 极少数患者还可排出斑块状的伪膜. 严重者可出现肠梗阻、中毒性巨结肠、穿孔及多器官功能衰竭等并发症, 即使进行积极抗感染乃至手术治疗, 其平均死亡率仍高达67%^[14].

结肠镜下, 早期患者肠黏膜可仅有轻度充血和水肿, 严重时可见黏膜脆性增加伴溃疡形成, 表面覆有黄白或黄绿色伪膜. 但伪膜形成在IBD患者中极为少见, 因此有学者推荐内镜检查作为评估疾病活动度及排除腹泻继发因素的方法而不作为常规检查^[15].

4 危险因素

青霉素类、头孢菌素类、克林霉素、先锋霉素类及喹诺酮类^[16]等抗生素均可导致CDI. 其主要通过改变肠道正常菌群分布使难辨梭状芽孢杆菌处于优势增殖地位而致病. 但其在IBD患者中的作用目前为止仍存在争议, Schneeweiss等^[17]研究报道57.2%的IBD合并CDI患者在发病前6 mo曾接受过抗生素治疗, 另一项对照研究^[18]显示UC患者30 d前使用抗生素可使CDI风险增加12倍. 但也有相关学者^[19]反对此观点.

长期住院或近期手术是另一危险因素, Kariv等^[18]研究报道在长期住院及近期手术同时存在的情况下, IBD患者CDI风险是正常对照组的3.67倍.

IBD本身可能就是CDI的危险因素, Rodemann等^[20]研究报道IBD患者CDI的风险是非IBD患者的3倍, 另一研究^[7]发现IBD患者CDI的发生率较正常成人明显升高并且在UC患者中更为常见. 但IBD患者应用免疫抑制剂或激素等药物治疗可能导致感染风险增加, Issa等^[21]研究发现2004、2005年分别有64%、78%存在CDI的IBD患者行免疫抑制剂维持治疗. Schneeweiss等^[17]报道IBD患者最初开始应用糖皮质激素和/或免疫抑制剂, 其CDI的风险是单纯应用免疫抑制剂的3倍, 同时发现应用生物制剂对IBD患者无感染风险. 另一项研究^[22]建议限制IBD患者使用糖皮质激素, 从而减少CDI及由此而造成的死亡.

最新研究发现, 抑酸剂, 主要包括质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)及H₂受体阻滞剂, 也可诱发CDI. Deshpande等^[23]发现PPI可增

■ 研发前沿

近一年来越来越多的文章报道粪菌移植可以用来治疗CDI, 有多项研究报道其有效性, 但尚未得到大规模前瞻性研究的证实.

■ 相关报道

Hamilton等用标准冻存粪菌治疗CDI患者,总成功率为95%,且进一步证实了其可以重建肠道菌群及清除难辨梭状芽孢杆菌。另有研究报告其总体治愈率高达98%。

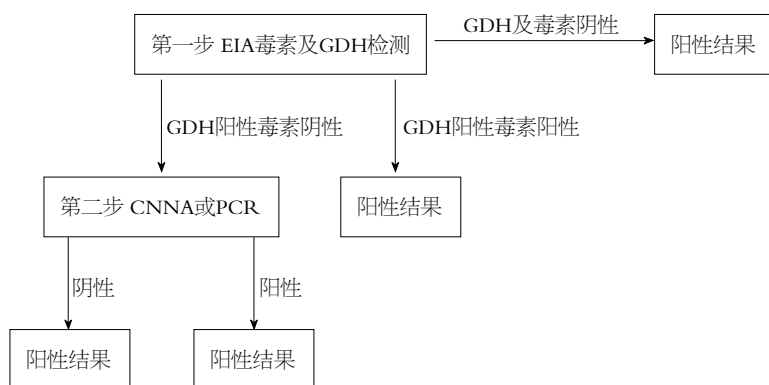


图1 两步法检测难辨梭状芽孢杆菌感染。GDH: 谷氨酸脱氢酶; EIA: 酶联免疫测定; CCNA: 细胞毒素中和试验。

加IBD患者CDI的风险,但同年发表在*PLoS One*的meta分析^[24]却反对此观点,认为PPI与CDI之间无明显的因果关系。Tleyjeh等^[25]研究报道应用H2受体阻滞剂2 wk即可增加发生CDI的风险,尤其是同时使用抗生素的患者。其机制可能与难辨梭状芽孢杆菌繁殖体(正常情况可被胃酸杀死)因使用了抑酸剂而存活,进而导致感染。因此,减少抑酸剂的不适当使用可能会显著降低CDI发生率。

5 实验室检测

由于症状的重叠性,IBD合并CDI与单纯的IBD急性发作往往难以分清^[26]。在血液化验方面,两者均可表现为血白细胞增多、低蛋白血症及粪便的白细胞增多等^[27]。为配合治疗,临床上需要快速而准确地检测。目前检测方法主要包括粪便培养、细胞毒素中和试验(cell cytotoxicity neutralization assay, CCNA)、酶联免疫测定(enzyme immunoassays, EIA)、核苷酸扩增试验(nucleic acid amplification tests, NAATs)技术等。粪便培养是既往诊断CDI的金标准,可辨别细菌的分子型,虽然敏感性高,但耗时长且特异性低,不能区分产毒株和非产毒株,且需进一步行毒素检测,可用于分子流行病学和药敏试验,但不推荐作为临床常规应用^[28]。

CCNA敏感性较高但特异性低,对技术要求高,仅能检测毒素B,其阴性并不能排除感染,且要48-72 h才能得到结果,故其临床应用受到了一定限制。

EIA可检测毒素A和毒素B,价格相对便宜,且2-6 h即可出结果,敏感性高而特异性较低。Deshpande等^[29]报道使用EIA分析粪便样本其首次检出率为81%,重复两次可继续检出14%及5%的样本。同时EIA还可以检测谷氨酸脱氢酶(glutamine dehydrogenase, GDH),其阴性预测值

较高,是较为理想的筛选方法^[30],但因其不能区分产毒株和非产毒株仍需进一步行EIA毒素检测或PCR检测。联合应用EIA毒素及GDH检测可提高特异性^[31]。

NAATs中应用较多的是聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术,是目前检测CDI最灵敏的方法,其敏感性高达90%以上,且特异性高,具有快速高效的优点^[28]。但其价格昂贵,且能发现隐性感染者,需结合临床症状决定是否对感染者进行治疗。即便如此,因该方法的优越性,近年来已有逐渐取代粪便培养、CCNA及EIA法的趋势^[31-33],可能成为检测CDI的新金标准。

目前部分实验室多采用两步法检测CDI^[34],检测方法囊括了EIA、CCNA以及PCR。联合检测可以获得75%-100%的敏感性及极高的特异性^[35],具体步骤如图1所示。

6 治疗

6.1 一般治疗 立即停止有可能造成CDI的抗生素是治疗最重要的一步,若无法停止抗生素使用,可选择其他不易造成CDI的药物。同时予以必要的对症支持治疗,如止泻、纠正水、电解质紊乱及低蛋白血症等。但对于是否应该停止IBD患者免疫抑制剂或激素的应用目前仍然存在争议,一项回顾性研究^[36]报道继续使用免疫抑制剂的患者较对照组并发症多、死亡率高。

6.2 抗生素治疗 甲硝唑及万古霉素是目前治疗的首选用药。甲硝唑可以采用口服或静脉注射,一般情况下首选口服给药,而使用万古霉素时需采取口服或灌肠^[37]。Nelson等^[38]研究显示对于轻中度患者,万古霉素与甲硝唑疗效相当,因此推荐轻中度患者口服甲硝唑治疗(250 mg/6 h或500 mg/8 h, 10-14 d)。但随着近年来甲硝唑耐药率的增加,对于病情危重的患者^[39],建议口服

万古霉素治疗(125 mg/6 h, 14 d). 而对于存在肠梗阻或中毒性巨结肠等并发症的患者, 建议予以万古霉素经鼻胃管^[40](500 mg/6 h)或灌肠给药^[41](500 mg/6 h)以提高患处的血药浓度或静脉应用甲硝唑治疗^[42](500 mg/8 h), 对于初次复发的患者^[43], 亦可采用以上方法.

但对多次复发的患者^[39], 需采用万古霉素冲击给药(125 mg/6 h, 10-14 d; 125 mg/12 h, 1 wk; 125 mg/d, 1 wk; 125 mg/2 d, 2-8 wk).

其他抗生素^[44-48]如杆菌肽、替考拉宁、夫西地酸、硝唑沙奈、利福平、利福昔明及非达米星等也开始应用于CDI的治疗, 但效果尚未得到大规模研究的证实.

6.3 免疫治疗 Lowy等^[49]报道人类单克隆抗体和万古霉素或甲硝唑联合使用, 可以减少毒素A、B, 降低CDI的复发率. 最新研究^[12]发现含有抗毒素B单克隆抗体较单纯抗毒素A单克隆抗体疗效好, 并且可明显降低死亡率. 另有研究^[50]使用静脉免疫球蛋白治疗严重的CDI, 发现仅对部分患者有效, 故还需要进一步的研究确定其疗效及安全性.

6.4 生态治疗 生态治疗包括益生菌及粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)治疗.

益生菌有助于恢复肠道菌群, 利于CDI的治疗. Na等^[51]报道鲍氏酵母菌及乳酸杆菌可减少高危患者发生CDI, 另一研究^[52]发现鲍氏酵母菌联合万古霉素或甲硝唑治疗, 对预防复发有一定作用, 而乳酸杆菌则无效, 但目前暂无单独使用益生菌治疗CDI有效的报道.

FMT是指将健康人粪便中的功能菌群, 移植到患者胃肠道内, 重建具有正常功能的肠道菌群, 实现肠道及肠道外疾病的诊疗. 近年来已有相当多的学者将其应用于CDI患者且都获得较好的疗效. Hamilton等^[53]用标准冻存粪菌治疗43例CDI患者, 总成功率为95%, 且进一步通过16rRNA基因测序方法^[54]证实了其可以重建肠道菌群及清除难辨梭状芽孢杆菌. 随后, 一个多中心研究^[55]报道FMT治疗CDI总治愈率高达98%, 其中, 91%的患者通过一次移植即治愈. 同时, Brandt等^[56]认为FMT治疗严重CDI可尽量避免手术及死亡发生. 尽管FMT可能导致疾病的传播、标准操作流程尚未统一, 且其长期疗效尚未得到相关对照研究的证实, 但目前国内外学者已将其作为经药物治疗无效及反复发作的IBD患者的挽救治疗^[57].

7 结论

CDI在IBD患者中的地位逐渐被认识, 但其发病机制仍未完全明确. 长期使用抗生素、免疫抑制剂、抑酸剂的患者发生CDI的可能性明显增加. 目前推荐结合多种方法检测以提高敏感性及特异性. 选择有效抗生素治疗是一重点, 同时可辅以免疫及生态治疗. FMT目前已临床应用于IBD及CDI患者, 但其长期疗效仍待考证. IBD危害性大, 可出现多种并发症, 应注意预防CDI的发生, 从而改善患者预后.

8 参考文献

- 1 Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of Clostridium difficile-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2009; 3: 4-7 [PMID: 21172241 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.09.003]
- 2 Pant C, Anderson MP, Deshpande A, Altaf MA, Grunow JE, Atreja A, Sferra TJ. Health care burden of Clostridium difficile infection in hospitalized children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1080-1085 [PMID: 23478808 DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182807563]
- 3 Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med* 2008; 359: 1932-1940 [PMID: 18971494 DOI: 10.1056/NEJMra0707500]
- 4 McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 409-415 [PMID: 16704777]
- 5 Pépin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, Pépin K, Chouinard D. Clostridium difficile-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ* 2004; 171: 466-472 [PMID: 15337727]
- 6 Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, Kuijper EJ, Wilcox MH. The changing epidemiology of Clostridium difficile infections. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 529-549 [PMID: 20610822 DOI: 10.1128/CMR.00082-09]
- 7 Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, Quigley EM, Kiely B, Hill C, Ross RP. The vexed relationship between Clostridium difficile and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1162-1169 [PMID: 19319128 DOI: 10.1038/ajg.2009.4]
- 8 Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7: 526-536 [PMID: 19528959 DOI: 10.1038/nrmicro2164]
- 9 Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4892-4904 [PMID: 20954275]
- 10 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan

■创新盘点

本文概述了难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的进展, 包括最近报道的危险因素、新型的检测方法, 以及免疫及生态治疗在炎症性肠病合并CDI中的应用.

■应用要点

本文对于临床上炎症性肠病合并CDI的患者的诊治具有一定的指导意义,可以帮助识别CDI及时治疗,改善患者预后。

- M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Ehrlich SD, Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65 [PMID: 20203603 DOI: 10.1038/nature08821]
- 11 Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, Kelly ML, Cockayne A, Minton NP. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. *Nature* 2010; 467: 711-713 [PMID: 20844489 DOI: 10.1038/nature09397]
- 12 Steele J, Mukherjee J, Parry N, Tzipori S. Antibody against TcdB, but not TcdA, prevents development of gastrointestinal and systemic *Clostridium difficile* disease. *J Infect Dis* 2013; 207: 323-330 [PMID: 23125448 DOI: 10.1093/infdis/jis669]
- 13 Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxins: mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 247-263 [PMID: 15831824]
- 14 Chan S, Kelly M, Helme S, Gossage J, Modarai B, Forshaw M. Outcomes following colectomy for *Clostridium difficile* colitis. *Int J Surg* 2009; 7: 78-81 [PMID: 19070558 DOI: 10.1016/j.ijsu.2008.11.002]
- 15 Ananthakrishnan AN, Issa M, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am* 2010; 94: 135-153 [PMID: 19944802 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.08.013]
- 16 Kelly CP. A 76-year-old man with recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea: review of *C. difficile* infection. *JAMA* 2009; 301: 954-962 [PMID: 19190304 DOI: 10.1001/jama.2009.171]
- 17 Schneeweiss S, Korzenik J, Solomon DH, Canning C, Lee J, Bressler B. Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 253-264 [PMID: 19438424 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04037.x]
- 18 Kariv R, Navaneethan U, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Impact of *Clostridium difficile* infection in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 34-40 [PMID: 21272802 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.007]
- 19 Kelsen JR, Kim J, Latta D, Smathers S, McGowan KL, Zaoutis T, Mamula P, Baldassano RN. Recurrence rate of *clostridium difficile* infection in hospitalized pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 50-55 [PMID: 20722068 DOI: 10.1002/ibd.21421]
- 20 Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo da H, Stone CD. Incidence of *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 339-344 [PMID: 17368233]
- 21 Issa M, Vijayapal A, Graham MB, Beaulieu DB, Otterson MF, Lundeen S, Skaros S, Weber LR, Komorowski RA, Knox JF, Emmons J, Bajaj JS, Binion DG. Impact of *Clostridium difficile* on inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 345-351 [PMID: 17368234]
- 22 Das R, Feuerstadt P, Brandt LJ. Glucocorticoids are associated with increased risk of short-term mortality in hospitalized patients with *clostridium difficile*-associated disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2040-2049 [PMID: 20389295 DOI: 10.1038/ajg.2010.142]
- 23 Deshpande A, Pant C, Pasupuleti V, Rolston DD, Jain A, Deshpande N, Thota P, Sferra TJ, Hernandez AV. Association between proton pump inhibitor therapy and *Clostridium difficile* infection in a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 225-233 [PMID: 22019794 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.09.030]
- 24 Tleyjeh IM, Bin Abdulhak AA, Riaz M, Alasmari FA, Garbati MA, AlGhamdi M, Khan AR, Al Tannir M, Erwin PJ, Ibrahim T, Allehibi A, Baddour LM, Sutton AJ. Association between proton pump inhibitor therapy and *clostridium difficile* infection: a contemporary systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e50836 [PMID: 23236397 DOI: 10.1371/journal.pone.0050836]
- 25 Tleyjeh IM, Abdulhak AA, Riaz M, Garbati MA, Al-Tannir M, Alasmari FA, Alghamdi M, Khan AR, Erwin PJ, Sutton AJ, Baddour LM. The association between histamine 2 receptor antagonist use and *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e56498 [PMID: 23469173 DOI: 10.1371/journal.pone.0056498]
- 26 Ben-Horin S, Margalit M, Bossuyt P, Maul J, Shapira Y, Bojic D, Chermesh I, Al-Rifai A, Schoepfer A, Bosani M, Allez M, Lakatos PL, Bossa F, Eser A, Stefanelli T, Carbonnel F, Katsanos K, Checchin D, de Miera IS, Reinisch W, Chowers Y, Moran GW. Prevalence and clinical impact of endoscopic pseudomembranes in patients with inflammatory bowel disease and *Clostridium difficile* infection. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 194-198 [PMID: 21122505 DOI: 10.1016/j.crohns.2009.11.001]
- 27 Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1432-1442 [PMID: 18484669 DOI: 10.1002/ibd.20500]
- 28 Kufelnicka AM, Kirn TJ. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1451-1457 [PMID: 21628487 DOI: 10.1093/cid/cir201]
- 29 Deshpande A, Pasupuleti V, Patel P, Pant C, Pagadala M, Hall G, Hu B, Jain A, Rolston DD, Sferra TJ, Atreja A. Repeat stool testing for *Clostridium difficile* using enzyme immunoassay in patients with inflammatory bowel disease increases diagnostic yield. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 1553-1560 [PMID: 22852871]
- 30 Snell H, Ramos M, Longo S, John M, Hussain Z. Performance of the TechLab C. DIFF CHEK-60 enzyme immunoassay (EIA) in combination with the C. difficile Tox A/B II EIA kit, the Triage C. difficile panel immunoassay, and a cytotoxin assay for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4863-4865 [PMID: 15472364]
- 31 Sharp SE, Ruden LO, Pohl JC, Hatcher PA, Jayne LM, Ivie WM. Evaluation of the C.Diff Quik Chek Complete Assay, a new glutamate dehydrogenase and A/B toxin combination lateral flow assay for use in rapid, simple diagnosis of *clostridium difficile* disease. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2082-2086 [PMID: 20375230 DOI: 10.1128/JCM.00129-10]
- 32 Stamper PD, Alcabasa R, Aird D, Babiker W, Wehrlin J, Ikpeama I, Carroll KC. Comparison of a commercial real-time PCR assay for tcdB detection to a cell culture cytotoxicity assay and toxigenic

- culture for direct detection of toxin-producing *Clostridium difficile* in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 373-378 [PMID: 19073875 DOI: 10.1128/JCM.01613-08]
- 33 Eastwood K, Else P, Charlett A, Wilcox M. Comparison of nine commercially available *Clostridium difficile* toxin detection assays, a real-time PCR assay for *C. difficile* tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3211-3217 [PMID: 19710274 DOI: 10.1128/JCM.01082-09]
 - 34 Kvach EJ, Ferguson D, Riska PF, Landry ML. Comparison of BD GeneOhm Cdiff real-time PCR assay with a two-step algorithm and a toxin A/B enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of toxigenic *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 109-114 [PMID: 19864479 DOI: 10.1128/JCM.01630-09]
 - 35 Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, Cumpio J, Nomura JH, Vance PH, Weissfeld A. *Clostridium difficile* testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 889-893 [PMID: 20071552 DOI: 10.1128/JCM.01801-09]
 - 36 Ben-Horin S, Margalit M, Bossuyt P, Maul J, Shapira Y, Bojic D, Chermesh I, Al-Rifai A, Schoepfer A, Bosani M, Allez M, Lakatos PL, Bossa F, Eser A, Stefanelli T, Carbonnel F, Katsanos K, Checchin D, Miera IS, Chowers Y, Moran GW. Combination immunomodulator and antibiotic treatment in patients with inflammatory bowel disease and *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 981-987 [PMID: 19523534 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.05.031]
 - 37 Leffler DA, Lamont JT. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 1899-1912 [PMID: 19457418 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.070]
 - 38 Nelson RL, Kelsey P, Leeman H, Meardon N, Patel H, Paul K, Rees R, Taylor B, Wood E, Malakun R. Antibiotic treatment for *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (9): CD004610 [PMID: 21901692 DOI: 10.1002/14651858]
 - 39 Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31: 431-455 [PMID: 20307191 DOI: 10.1086/651706]
 - 40 Fekety R, Silva J, Kauffman C, Buggy B, Deery HG. Treatment of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis with oral vancomycin: comparison of two dosage regimens. *Am J Med* 1989; 86: 15-19 [PMID: 2910090]
 - 41 Apisarnthanarak A, Razavi B, Mundy LM. Adjunctive intracolonic vancomycin for severe *Clostridium difficile* colitis: case series and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 690-696 [PMID: 12203166]
 - 42 Friedenbergl F, Fernandez A, Kaul V, Niami P, Levine GM. Intravenous metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1176-1180 [PMID: 11535859]
 - 43 Pépin J, Routhier S, Gagnon S, Brazeau I. Management and outcomes of a first recurrence of *Clostridium difficile*-associated disease in Quebec, Canada. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 758-764 [PMID: 16477549]
 - 44 Garey KW, Ghantaji SS, Shah DN, Habib M, Arora V, Jiang ZD, DuPont HL. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study to assess the ability of rifaximin to prevent recurrent diarrhoea in patients with *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2850-2855 [PMID: 21948965 DOI: 10.1093/jac/dkr377]
 - 45 Mullane KM, Miller MA, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Sears PS, Shue YK, Louie TJ, Gorbach SL. Efficacy of fidaxomicin versus vancomycin as therapy for *Clostridium difficile* infection in individuals taking concomitant antibiotics for other concurrent infections. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 440-447 [PMID: 21844027 DOI: 10.1093/cid/cir404]
 - 46 Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, Weiss K, Lentnek A, Golan Y, Gorbach S, Sears P, Shue YK. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 422-431 [PMID: 21288078 DOI: 10.1056/NEJMoa0910812]
 - 47 Musher DM, Logan N, Bressler AM, Johnson DP, Rossignol JF. Nitazoxanide versus vancomycin in *Clostridium difficile* infection: a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2009; 48: e41-e46 [PMID: 19133801 DOI: 10.1086/596552]
 - 48 Lagrotteria D, Holmes S, Smieja M, Smail F, Lee C. Prospective, randomized inpatient study of oral metronidazole versus oral metronidazole and rifampin for treatment of primary episode of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 547-552 [PMID: 16886144]
 - 49 Lowy I, Molrine DC, Leav BA, Blair BM, Baxter R, Gerding DN, Nichol G, Thomas WD, Leney M, Sloan S, Hay CA, Ambrosino DM. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* 2010; 362: 197-205 [PMID: 20089970 DOI: 10.1056/NEJMoa0907635]
 - 50 Abougergi MS, Broor A, Cui W, Jaar BG. Intravenous immunoglobulin for the treatment of severe *Clostridium difficile* colitis: an observational study and review of the literature. *J Hosp Med* 2010; 5: E1-E9 [PMID: 20063275 DOI: 10.1002/jhm.542]
 - 51 Na X, Kelly C. Probiotics in *Clostridium difficile* Infection. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S154-S158 [PMID: 21992956 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31822ec787]
 - 52 Pillai A, Nelson R. Probiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated colitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (1): CD004611 [PMID: 18254055]
 - 53 Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 761-767 [PMID: 22290405 DOI: 10.1038/ajg.2011.482]
 - 54 Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, Khoruts A, Sadowsky MJ. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes* 2013; 4: 125-135 [PMID: 23333862 DOI: 10.4161/gmic.23571]
 - 55 Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, Kanatzar A, Kelly C, Park T, Stollman N, Rohlke F, Surawicz C. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile*

同行评价

本文综述了难辨梭状芽孢杆菌在炎症性肠病中的研究进展, 选题新颖, 内容详实全面, 归纳炎症性肠病合并难辨梭状芽孢杆菌感染的诊治进展, 有一定的临床指导价值。

- infection. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1079-1087 [PMID: 22450732 DOI: 10.1038/ajg.2012.60]
- 56 Brandt LJ, Borody TJ, Campbell J. Endoscopic fecal microbiota transplantation: "first-line" treatment for severe clostridium difficile infection? *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 655-657 [PMID: 21716124 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182257d4f]
- 57 Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 503-516 [PMID: 22827693 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05220.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇,退稿887篇,退稿率57.63%,发表文章652篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评34篇(5.21%),基础研究94篇(14.42%),临床研究61篇(9.36%),焦点论坛20篇(3.07%),文献综述114篇(17.48%),研究快报86篇(13.19%),临床经验222篇(34.05%),病例报告21篇(3.22%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(《世界华人消化杂志》编辑部)

水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达

张国平, 袁维堂

张国平, 袁维堂, 郑州大学第一附属医院肛肠外科 河南省郑州市 450052

张国平, 主要从事结肠肿瘤的研究.

河南省杰出青年基金资助项目, No. 084100510017

作者贡献分布: 此课题在袁维堂的指导下由张国平设计; 动物的饲养、结肠大部切除大鼠模型的制作及手术后的管理、术后大鼠粪便含水量测定及PCR等由袁维堂全程指导, 并协助张国平完成关键环节; 实验数据的整理分析由张国平完成; 本论文写作由张国平完成; 袁维堂负责审核.

通讯作者: 袁维堂, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院肛肠外科.

ywt555@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Expression of AQP3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection

Guo-Ping Zhang, Wei-Tang Yuan

Guo-Ping Zhang, Wei-Tang Yuan, Department of Colorectal Surgery of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the Outstanding Youth Foundation of Henan Province, No. 084100510017

Correspondence to: Wei-Tang Yuan, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. ywt555@yahoo.com.cn

Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To examine the expression of Aquaporins (AQPs) 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection.

METHODS: Thirty-two healthy adult SD rats were randomly and equally divided into either a control group or an experimental group. Under general anesthesia, resection of about two-thirds of the colon was performed 5.0 cm from the ileocecal junction, followed by an end-to-end anastomosis with a single-layer 6/0 polypropylene suture. The animals were allowed to eat 24 h

after the surgery, and the water content of feces was determined. Rats of the experimental group were killed on days 14 and 28 after surgery, and those of the control group were killed on day 28 to take colonic mucosal samples. RT-PCR was used to determine the expression of AQPs 3, 8 and 9.

RESULTS: After surgery, the water content of feces increased. The relative expression levels of AQPs 3, 8 and 9 were significantly lower in the control group (day 28) than in the experimental group (days 14 and 28) (AQP3: 0.352, 0.425 vs 0.614, both $P < 0.01$; AQP8: 0.425, 0.518 vs 0.733, both $P < 0.01$; AQP9: 0.422, 0.516 vs 0.632, both $P < 0.01$).

CONCLUSION: After extensive colon resection, expression of AQPs 3, 8 and 9 in the remaining colon increases, which may accelerate the absorption of water and increase the moisture of feces.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Extensive colon resection; Aquaporin; Colonic mucosa; Rats

Zhang GP, Yuan WT. Expression of AQPs 3, 8 and 9 in the residual colonic mucosa of rats with extensive colon resection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2315-2319 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2315.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2315>

摘要

目的: 探索大鼠结肠部分切除术后, 水通道蛋白(aquaporin, AQP)3、8、9在剩余结肠黏膜中的表达变化.

方法: 健康成年SD大鼠32只, 随机分为对照组、实验组, 各16只; 对照组为假手术组; 实验组全麻下距回盲部5.0 cm处切除约2/3结肠, 6/0无创缝线间断单层端端吻合肠管, 术后禁食、水24 h, 然后正常喂养; 检测粪便含水量情况; 实验组术后14和28 d随机处死各6只,

■背景资料

近年结直肠肿瘤发病率逐年上升, 涉及结肠切除的患者较多, 术后腹泻是常见的并发症, 患者痛苦不堪. 水通道蛋白(aquaporin, AQP)作为结肠内转运水分的重要跨膜蛋白, 在水分的主动转运中作用巨大. 结肠缩短, 载体蛋白的数量下降, 与结肠水代谢能力降低关系密切, 国内外有关AQP在消化系统的研究较多, 但有关结肠切除术后, 剩余结肠内AQP的表达与粪便含水量情况, 报道较少.

■同行评议者

刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研究前沿

AQP在人体不同组织的定位及表达,一直是国内外研究的热点。本文通过大鼠结肠大部切除模型,试图研究AQP3、8、9在术前及术后不同时段表达与粪便含水量的关系,以期从分子生物学角度寻找术后腹泻的可能原因。若能人为干预术后AQP3、8、9的表达,进一步研究粪便的含水量情况,可能更加具有临床研究价值。

提取结肠黏膜,冻存待检;对照组假手术后28 d全部处死,提取结肠黏膜,冻存待检;按RT-PCR方法检测结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA的表达情况。

结果: (1)实验组大鼠术后粪便含水量增加; (2)对照组、实验组术后第14天和术后第28天目的基因条带与内参条带灰度值之比平均值分别为: AQP3为0.352、0.425、0.614($P<0.01$); AQP8为0.425、0.518、0.733($P<0.01$); AQP9为0.422、0.516、0.632($P<0.01$)。

结论: (1)结肠大部切除术后粪便含水量增加,术后时间延长,粪便含水量开始减少; (2)剩余结肠AQP3、8、9表达量增加,在一定程度上加速了结肠对水分的吸收。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 结肠大部切除; 水通道蛋白; 结肠黏膜; 大鼠

核心提示: 建立大鼠结肠大部切除模型,对照组与术后不同时段组比较,发现术后粪便含水量增加,术后时间延长,粪便含水量开始减少,水通道蛋白(aquaporin)3、8、9表达量增加可能加速了结肠水分的代谢。

张国平, 袁维堂. 水通道蛋白3、8、9在结肠大部切除大鼠剩余结肠黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2315-2319
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2315.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2315>

0 引言

水通道蛋白(Aquaporin, AQP)又名水孔蛋白,是一种位于细胞膜上的蛋白质,在细胞膜上组成孔道,可控制水在细胞的进出。自1988年Agre等发现了这种特殊的蛋白质后,人们通过免疫组织化学、RT-PCR等研究发现在哺乳动物中有13种AQP亚型(AQP0-AQP12)^[1,2]。国内外文献报道AQP3、8、9等存在结肠^[3-6],与结肠水分吸收和分泌有密切关系。因结肠病变切除结肠后腹泻的发生率达5%-30%^[7],患者需要经历一段艰难的代偿期^[8],在此期间AQPs表达发生了如何变化,其表达变化是否与代偿有关,目前罕有文献报道。

1 材料和方法

1.1 材料 健康12周龄Sprague-Dawley(SD)大鼠32只,体质量250-300 g,雌雄各半,由郑州大学动物中心提供,实验动物合格证编号: SCXK(豫)

2010-0002,大鼠随机分为对照组和实验组,各16只;3组大鼠性别、年龄及体质量的差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性(表1);全部大鼠均单笼饲养。盐酸氯胺酮注射液,为本次实验的麻醉剂,由陕西正康医药化工有限公司提供;RNA提取液TRIzol(美国Invitrogen公司)提供;Thermo RT Kit cDNA、2×Taq PCR MasterMix试剂盒(北京TianGen公司);Marker、50×TAB电泳液(中国Solarbio公司);SD大鼠AQP3、8、9及 β -actin的基因序列由NCBI中的Genbank获得,由华大基因研究中心设计完成,并通过NCBI BLAST核对其特异性(如表2所示);其他的相关材料由当地购买。

1.2 方法

1.2.1 模型的建立: (1)两组大鼠术前禁食24 h,不禁水;对照组腹腔注射氯胺酮全麻,开腹后不切除肠管,常规关腹,禁食水24 h后,自由进食; (2)氯胺酮按10 mg/kg剂量,对实验组大鼠行腹腔注射全麻;麻醉完成后,将其固定在恒温手术台上,给予气管插管和股动脉插管,以保证大鼠呼吸通畅和监测动脉血压;术区备皮消毒,取正中切口,先找到大鼠结肠,距回盲部5.0 cm处切除约2/3结肠,用6/0无创缝线间断单层端端吻合肠管,缝合结肠系膜,用普通丝线逐层关腹,关腹前腹腔内注射青霉素钠20万单位,术毕将大鼠放入代谢笼; (3)实验组大鼠术后24 h,自由进食水^[9],大鼠结肠大部切除模型建立; (4)实验组术后死于吻合口漏4只,其余在结肠切除术后的第14天和28天随机处死各6只,提取结肠黏膜冻存;对照组假手术后第28天全部处死,提取结肠黏膜冻存。

1.2.2 RNA的提取及RT-PCR: (1)大鼠禁食不禁水24 h,氯胺酮腹腔注射麻醉,由腹正中切1:3入腹,截取结肠黏膜,置入液氮中冻存;按照TRIzol提取RNA试剂盒说明提取组织中的总RNA,用普通凝胶电泳成像系统检测其完整性;按照cDNA试剂盒的说明对其反转录;按照PCR扩增试剂盒的要求,对目的DNA扩增; (2)PCR扩增反应:取以上逆转录产物1 μ L,依次加入Forward Primer 1 μ L(10 mmol/L)、Reverse Primer 1 μ L(10 μ mmol/L),2×Master Mix 12.5 μ L,ddH₂O补至总体积为25 μ L;扩增条件:94 $^{\circ}$ C,3 min;94 $^{\circ}$ C 30 s;TM(AQP3:56 $^{\circ}$ C;AQP8:55 $^{\circ}$ C;AQP9:58 $^{\circ}$ C; β -actin:61 $^{\circ}$ C),72 $^{\circ}$ C 1 min,一个循环,共35个循环,72 $^{\circ}$ C延伸5 min;4 $^{\circ}$ C保存。置于1.5%琼脂糖凝胶中电泳36 min,条带在凝胶成像

■相关报道

国内外有关“慢传输型便秘”患者结肠内AQP的变化情况,观察到了AQP3表达量的下调,以减少对水分的主动转运;还有关于通过HgCl₂和CuSO₄抑制大鼠结肠AQP3的表达,从而导致了大鼠持续的腹泻,也证明了AQP在结肠水分主动转运中的重要作用。

表 1 对照组及实验组大鼠性别、年龄及体质量统计学比较 (mean ± SD)

分组	性别		周龄(wk)	体质量(g)
	♀	♂		
对照组	8	8	12	252.68 ± 7.07
实验组	8	8	12	251.44 ± 4.47
统计量	$\chi^2 = 0.00$		$t = 0.00$	$t = 0.568$
P值	>0.05		>0.05	>0.05

表 2 目的基因及内参引物核苷酸序列

基因	上游引物	下游引物	扩增长度(bp)
AQP3	TCTCGGGCTAAAAACGCTCC	GAGCTACGCCCTCTTATGC	455
AQP8	TGGCATGTCTGGTATGAGC	TTCTCATTGACGGCACCCAT	422
AQP9	TCACCTCCAGAGATCCGTGT	ACTCCATCCTTCCAAAGGCG	421
β -actin	TCAGGTCATCACTATCGGCAAT	AAAGAAAGGGTGTAACGCA	332

AQP: 水通道蛋白.

表 3 对照组与实验组结肠黏膜AQP3、8、9灰度值比平均值 (mean ± SD)

分组	n	AQP3	AQP8	AQP9
对照组	16	0.352 ± 0.232	0.425 ± 0.102	0.422 ± 0.099
术后14 d组	6	0.425 ± 0.071	0.518 ± 0.100	0.516 ± 0.112
术后28 d组	6	0.614 ± 0.066	0.733 ± 0.035	0.632 ± 0.114
统计量				
F值		3868.0	372.0	658.1
t1		-22.48	-17.28	-16.35
t2		-78.42	-25.24	-36.78
P值		<0.01	<0.01	<0.01

AQP: 水通道蛋白.

系统上扫描; 观察扩增后的条带是否符合目的条带; 利用软件对电泳条带进行灰度值的测定, 目的条带与对应的内参 β -actin条带的灰度比值作为统计数据; (3)粪便含水量测定: 收集对照组每一只大鼠的1粒粪便; 术后14 d组和术后28 d组收集处死前48 h的粪便, 方法同对照组; 称量粪便湿重量, 干质量(湿便65 °C恒温, 干燥12 h), 最后计算粪便的含水量, 行统计学处理.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学分析, 对大鼠的性别、年龄、体质量, 行 χ^2 检验和t检验; 实验数据正态性检验服从正态分布, 行单因素方差分析(one-way ANOVA), 若有显著性差异, 则用LSD进行组间比较.

2 结果

2.1 电泳成像 对照组(N)、术后14 d组(2W)、术后28 d组(4W), 其AQP3、8、9凝胶电泳成像系统上扫描结果, 如图1.

2.2 实验组与对照组结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA比较 实验组较对照组结肠黏膜AQP3、8、9 mRNA表达量增加, 目的基因条带与内参条带灰度值之比均值也相应增大; 术后14 d组、对照组比较, 差异有显著统计学意义(t_1); 术后28 d组、对照组比较, 差异有显著统计学意义(t_2), 如表3.

2.3 粪便含水量比较 对照组即假手术组粪便含水量均值高于术后14 d组和术后28 d组, 术后14

■创新盘点

国外有文献报道大鼠行小肠大部切除术后, 观察到AQP在短期内表达量增加, 同时粪便变稀, 3-6 mo后, AQP表达量进一步增加, 粪便由稀变稠. 本文对大鼠结肠大部切除, 观察到剩余结肠AQP表达量增加, 在一定程度上加速了脱水粪便的形成.

■应用要点

大鼠结肠大部切除模型, 模拟了临床上结肠部分切除患者的术后情况, 探索了术后腹泻发生的可能原因, 若能从分子生物学水平调节结肠黏膜AQP的表达, 人为调节结肠水代谢的功能, 缩短结肠切除术后痛苦的代偿时间, 从而大大提高患者术后生活质量.

■名词解释

AQP: 又名水孔蛋白, 是一种位于细胞膜上的蛋白质, 在细胞膜上组成孔道, 可控制水在细胞的进出。作为水通道蛋白家族的一种, 广泛存在于原核和真核生物细胞膜, 能高效、选择性的转运水分。

表 4 对照组与术后14天组、术后28天组1粒粪便含水量平均值比较 (mean \pm SD)

分组	n	粪便湿质量(mg)	粪便干质量(mg)	粪便含水量(%)
对照组	12	59.5 \pm 40.1	32.8 \pm 25.9	47.2 \pm 6.4 ^a
术后14天组	10	263.1 \pm 30.4	85.3 \pm 25.1	68.4 \pm 4.7 ^c
术后28天组	10	281.2 \pm 38.4	93.4 \pm 20.3	63.7 \pm 5.2 ^e

^a $P < 0.05$ vs 术后14天组; ^c $P < 0.05$ vs 术后28天组; ^e $P < 0.05$ vs 术后14天组。

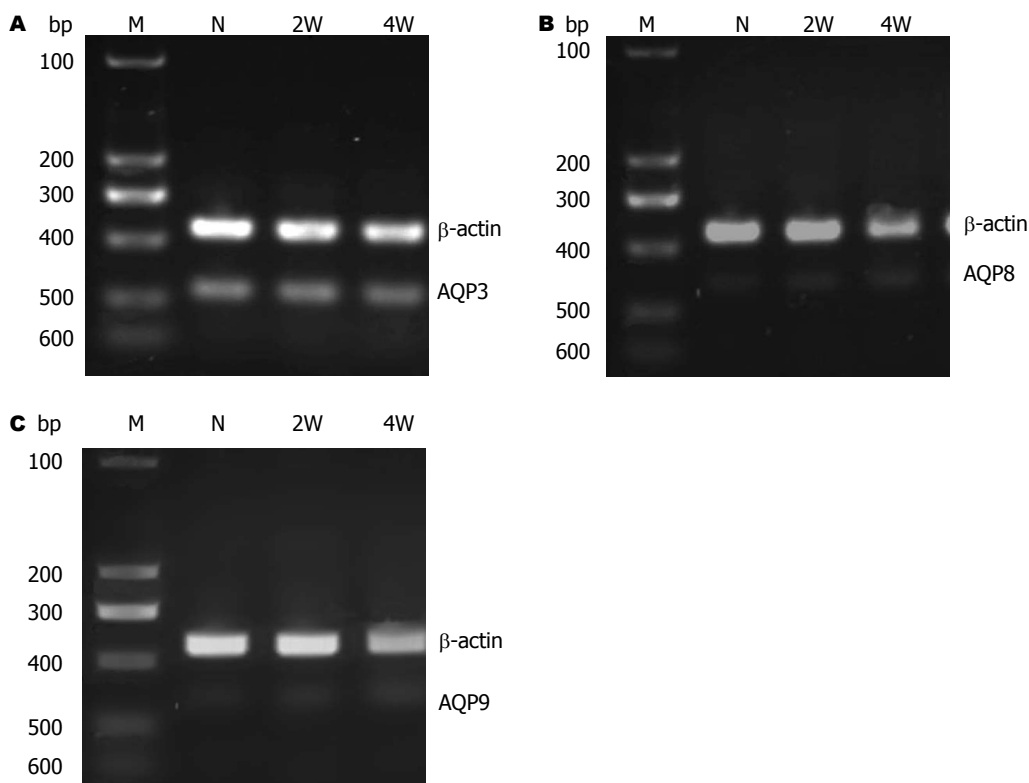


图 1 对照组、术后14天组和术后28天组AQP3、8、9凝胶电泳成像图. A: AQP3; B: AQP8; C: AQP9; M: marker; N: 对照组; 2W: 术后14 d组; 4W: 术后28 d组; β -actin: 内参蛋白; AQP: 水通道蛋白。

d组粪便含水量均值高于术后28 d组; 对照组、术后14 d组比较差异有显著统计学意义($P < 0.01$), 对照组、术后28 d组比较差异有显著统计学意义($P < 0.01$), 术后28 d组、术后14 d组比较差异有显著统计学意义($P < 0.01$, 表4)。

3 讨论

健康成年人, 每天进入胃肠道的液体达9 L左右, 约有7 L的液体在小肠被吸收, 结肠每天逆浓度梯度吸收大约1.5-2.0 L的水, 仅有100 mL左右的水分经由粪便丢失, 因此结肠在脱水粪便形成中的作用不容忽视, 然而结肠黏膜的电阻明显高于小肠^[10], 在这种条件下结肠对水分的吸收更需要借助于载体系统才能得以实现, 而AQPs又是结肠内水代谢重要的载体蛋白, 国内外研究

已经证实: AQP3、AQP8、AQP9表达于结肠黏膜的上皮细胞, 而且其表达强度与吸收转运的活跃程度有一定关系^[4,11,12]。

临床上结直肠肿瘤患者因手术切除了部分结肠, 术后排便频次和质量有所改变, 腹泻较为常见。结肠黏膜的丧失, 导致AQP总量下降无法满足正常的水代谢需要, 可能是术后腹泻发生的原因之一。Ikarashi等^[13]通过HgCl₂和CuSO₄抑制大鼠结肠AQP3的表达, 从而导致了大鼠持续的腹泻, 排便质量下降, 证明了AQP在结肠水代谢中的重要作用。Tsujikama等^[14]切除了大鼠80%的小肠后, 术后第1天就观察到AQP3在结肠的表达量增加, 术后第7天, AQP8在结肠的表达量也增加; 小肠大部切除后, 粪便变稀, 3-6 mo后, 由稀变稠, 同时也观察到结肠AQP的表达量相

应增加, 认为AQP在结肠表达量代偿性的增加, 增加了结肠跨膜转运水分的载体蛋白数量, 水代谢能力代偿性增强, 从而加速了脱水粪便的形成, 这同样也证明了AQP在正常粪便形成中的重要作用. 本实验中切除了大鼠约2/3的结肠, 正常进食后, 粪便含水量增加, 术后第14天, 检测结果显示大鼠结肠黏膜中AQP3、8、9的表达量增加, 第28天表达量明显增加, 但随着术后时间的延长, 粪便含水量开始减少, 与上述学者实验结果一致, 更进一步说明了AQP的表达量在增加, 在一定程度上加速了结肠水分的吸收.

临床上多种疾病特别是结肠肿瘤患者需行结肠部分切除术, 术后患者排便频次增加, 腹泻的发生率较高^[15]. 若能从分子生物学水平调节结肠黏膜AQPs的表达和功能, 则可人为调节结肠吸收和分泌水分的功能, 从而缩短结肠切除术后痛苦的代偿时间, 这将是我们的研究方向.

4 参考文献

- Nielsen CH. Major intrinsic proteins in biomimetic membranes. *Adv Exp Med Biol* 2010; 679: 127-142 [PMID: 20666229 DOI: 10.1007/978-1-4419-6315-4_10]
- Johansson B, Eriksson A, Virtanen I, Thornell LE. Intermediate filament proteins in adult human arteries. *Anat Rec* 1997; 247: 439-448 [PMID: 9096782 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0185(199704)247:4<439::AID-ARI>3.0.CO;2-M]
- Li A, Lu D, Zhang Y, Li J, Fang Y, Li F, Sun J. Critical role of aquaporin-3 in epidermal growth factor-induced migration of colorectal carcinoma cells and its clinical significance. *Oncol Rep* 2013; 29: 535-540 [PMID: 23165320 DOI: 10.3892/or.2012.2144]
- Ikarashi N, Ushiki T, Mochizuki T, Toda T, Kudo T, Baba K, Ishii M, Ito K, Ochiai W, Sugiyama K. Effects of magnesium sulphate administration on aquaporin 3 in rat gastrointestinal tract. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 238-242 [PMID: 21415534 DOI: 10.1248/bpb.34.238]
- Liu J, Tian DA, Wang JP, Zhang SZ, Feng J, Zhao ZZ, Hao YX, Liu P. Expression of aquaporin 8 and its relationship with melanosis coli. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 3061-3065 [PMID: 22040556]
- Yuan WT, Yang HF, Zhang ZY, Liu JB. [Expression and significance of aquaporin 3 and aquaporin 9 in colonic mucosa of patients with functional constipation]. *Zhonghua Weichang Waikie Zazhi* 2008; 11: 57-60 [PMID: 18197497]
- He D, Wang HY, Feng JY, Zhang MM, Zhou Y, Wu XT. Use of pro-/synbiotics as prophylaxis in patients undergoing colorectal resection for cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012 Nov 19. [Epub ahead of print] [PMID: 23182673 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.10.007]
- Theodoropoulos GE, Papanikolaou IG, Karantanos T, Zografos G. Post-colectomy assessment of gastrointestinal function: a prospective study on colorectal cancer patients. *Tech Coloproctol* 2013 Apr 19. [Epub ahead of print] [PMID: 23605189 DOI: 10.1007/s10151-013-1008-9]
- Karatepe O, Kurtulus I, Yalcin O, Battal M, Kamali G, Aydin T. Adrenomedulline improves ischemic left colonic anastomotic healing in an experimental rodent model. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66: 1805-1810 [PMID: 22012055 DOI: 10.1590/S1807-59322011001000021]
- Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Mol Aspects Med* 2012; 33: 642-650 [PMID: 22465691 DOI: 10.1016/j.mam.2012.03.001]
- Yamamoto T, Kuramoto H, Kadowaki M. Down-regulation in aquaporin 4 and aquaporin 8 expression of the colon associated with the induction of allergic diarrhea in a mouse model of food allergy. *Life Sci* 2007; 81: 115-120 [PMID: 17574630 DOI: 10.1016/j.lfs.2007.04.036]
- Okada S, Misaka T, Matsumoto I, Watanabe H, Abe K. Aquaporin-9 is expressed in a mucus-secreting goblet cell subset in the small intestine. *FEBS Lett* 2003; 540: 157-162 [PMID: 12681500 DOI: 10.1016/S0014-5793(03)00256-4]
- Ikarashi N, Kon R, Iizasa T, Suzuki N, Hiruma R, Suenaga K, Toda T, Ishii M, Hoshino M, Ochiai W, Sugiyama K. Inhibition of aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea. *Biol Pharm Bull* 2012; 35: 957-962 [PMID: 22687538 DOI: 10.1248/bpb.35.957]
- Tsujikawa T, Itoh A, Fukunaga T, Satoh J, Yasuoka T, Fujiyama Y. Alteration of aquaporin mRNA expression after small bowel resection in the rat residual ileum and colon. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 803-808 [PMID: 12795752 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.03033.x]
- Manceau G, d'Annunzio E, Karoui M, Breton S, Rousseau G, Blanchet AS, Vaillant JC, Hannoun L. Elective subtotal colectomy with ileosigmoid anastomosis for colon cancer preserves bowel function and quality of life. *Colorectal Dis* 2013 Apr 9. [Epub ahead of print] [PMID: 23570604 DOI: 10.1111/codi.12237]

同行评价

本文研究方法科学, 结论可信, 有一定学术价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例

赵宗盛, 徐建军, 陈焕文, 陈立如, 温 华, 朱腾高, 魏益平

■背景资料

食管癌(esophageal cancer, EC)在我国属高发、高死亡率、高死亡率的恶性肿瘤之一, 早期诊断早期治疗可以明显延长患者的生存时间, 尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)可能为EC的早期诊断、快速诊断提供一定技术参考。

赵宗盛, 徐建军, 陈立如, 温华, 魏益平, 南昌大学第二附属医院 江西省南昌市 330006

陈焕文, 朱腾高, 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室 江西省南昌市 330013

赵宗盛, 在读硕士, 主要从事胸部肿瘤诊治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160293

国家重大科学仪器设备开发专项基金资助项目, No. 2011YQ170067-09

作者贡献分布: 本课题由徐建军、魏益平及赵宗盛设计, 研究过程主要由赵宗盛完成; 温华与陈立如参与操作; 陈焕文与朱腾高参与实验指导; 论文的数据处理与写作由赵宗盛完成。

通讯作者: 魏益平, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院心胸外科。weiyip2000@hotmail.com

收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases

Zong-Sheng Zhao, Jian-Jun Xu, Huan-Wen Chen, Li-Ru Chen, Hua Wen, Teng-Gao Zhu, Yi-Ping Wei

Zong-Sheng Zhao, Jian-Jun Xu, Li-Ru Chen, Hua Wen, Yi-Ping Wei, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Huan-Wen Chen, Teng-Gao Zhu, Jiangxi Province Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, Jiangxi Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160293; the National Special Fund for Key Scientific Instrument and Equipment Development, No. 2011YQ170067-09

Correspondence to: Yi-Ping Wei, Associate Chief Physician, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. weiyip2000@hotmail.com

Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To discuss the application of tip-spray ionization mass spectrometry (MS) in the diagnosis of esophageal cancer.

METHODS: Tip-spray MS was used to analyze esophageal cancer tissue samples and matched tumor-adjacent esophageal tissue samples from 22 patients with esophageal cancer. Principal component analysis (PCA) was performed to

process data from the MS fingerprint spectra.

RESULTS: Peptide peaks at m/z values of 104, 154, 175, 611, 655, 699, 743, 787 and 831 showed significantly different relative abundance. Peaks at m/z values of 611, 655 and 699, which corresponded to porphyrin, had the most obvious difference. PCA could effectively distinguish esophageal cancer and tumor-adjacent normal tissue.

CONCLUSION: Tip-spray MS combined with PCA can effectively distinguish esophageal cancer and tumor-adjacent normal tissue and therefore may contribute to the rapid diagnosis of esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Rapid diagnosis; Tip-spray ionization mass spectrometry; Principal component analysis

Zhao ZS, Xu JJ, Chen HW, Chen LR, Wen H, Zhu TG, Wei YP. Tip-spray ionization mass spectrometry for diagnosis of esophageal cancer: An analysis of 22 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2320-2324 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2320>

摘要

目的: 探讨尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)对食管癌(esophageal cancer, EC)诊断的应用。

方法: 收集22例EC及配对的癌旁组织, 应用Tip-spray-MS技术对组织样品进行快速分析, 调节Tip-spray离子源为正离子模式, 质量范围50-1000 Da, 喷雾电压为3.5 kV, 喷雾距离为2 cm, 透镜电压为65.0 V, 离子传输管温度为150 °C。运用Matlab软件主成分分析(principal component analysis, PCA)方法对所获质谱指纹谱进行统计学分析。

结果: EC与癌旁组织的质谱指纹谱图中相对

■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

丰度有明显差异的质荷比(m/z)为104、154、175、611、655、699、743、787、831等处, 其中 m/z 为611、655、699处丰度差异最显著, 其所对应的物质为吡啶, 运用PCA方法能够良好地区分EC及癌旁组织。

结论: Tip-spray-MS联合PCA能有效鉴别EC及癌旁正常组织, 有助于EC的早期、快速诊断。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管癌; 快速诊断; 尖端电喷雾萃取电离质谱; 主成分分析

核心提示: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术(tip-spray ionization mass spectrometry)技术可以良好地区分食管癌(esophageal cancer, EC)及癌旁组织, 并发现带不同羧基的吡啶分子是其区分的重要物质基础, 这不仅为EC的早期诊断提供了技术参考, 也为EC的发病机制提供了一定的分子生物学佐证。

赵宗盛, 徐建军, 陈煥文, 陈立如, 温华, 朱腾高, 魏益平. 尖端电喷雾萃取电离质谱技术诊断食管癌22例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2320–2324 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2320>

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是我国常见的恶性肿瘤之一, 其发病率逐年上升, 死亡率一直在高位徘徊^[1], 早期EC患者手术治疗后其5年生存率在90%以上, 而中晚期患者通过以手术为主的综合治疗, 其5年生存率仍在10%以下^[2,3]。目前, 尽管针对EC的诊疗技术有很大提高, 但首次就诊的EC患者仍有半数以上属中晚期, 故为提高患者的生存率, 早期明确诊断是关键, 现有的相关检查对EC的早期诊断或多或少都有一定不足。尖端电喷雾萃取电离质谱(tip-spray ionization mass spectrometry, Tip-spray-MS)技术是衍生于电喷雾电离(electro-spray ionization, ESI)技术的一个前沿质谱技术^[4], 其突出特征就是灵敏度高、特异性强、普适性广、速度快。在无需样品预处理的情况下, 应用此技术已经快速分析了动物或人体内脏、血液、牛奶以及尿液等复杂样品的化学成分^[5-8]。本研究运用Tip-spray-MS对EC患者组织样品进行分析, 以期发现用于EC早期诊断的快速新方法。

1 材料和方法

1.1 材料 本项目研究得到南昌大学第二附属医院伦理委员会认证, 所有纳入病例均知情同意标本采集及相关检查。本组22例EC及各配对的癌旁正常组织取自南昌大学第二附属医院心胸外科的EC手术切除标本, 其中男14例, 女8例, 年龄40-72岁, 中位年龄55岁, 术后病理检查全部确诊为食管鳞状细胞癌, 标本在离体后短时间(5 min)内-80 °C冰箱冻存备用, 样品的运输载体为干冰。LTQ-XL增强型线性离子阱质谱仪(美国Finnigan公司, 配Xcalibur数据软件); 甲醇(色谱纯, 美国Fisher Scientific公司); 实验用水为自制二次去离子水; 针灸针(天津华鸿医材有限公司, 直径为0.30 mm); KQ3200号超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 Tip-spray离子源的参数设置: 设置Tip-spray离子源为正离子模式, 喷雾电压3.5 kV; 离子传输管温度150 °C; 透镜电压65.0 V; 萃取剂滴加速度5 $\mu\text{L}/\text{min}$; 质量扫描范围50-1000 Da; 样品与质谱入口距离为2 cm, 针灸针延长线与质谱入口延长线在同一直线, 其他条件质谱系统自动优化。

1.2.2 组织样品的Tip-spray-MS分析: 将冷冻的食管组织常温下解冻后, 无需任何预处理, 直接将体积约为1 mm^3 的样品置于针灸针尖进行检测, 设置离子源为正离子模式, 扫描范围为50-1000 Da。

1.2.3 Tip-spray-MS指纹谱图的主成分分析: 导出Tip-spray-MS记录的食管组织样品质谱指纹谱的相对丰度数据, 整理数据, 每行代表一个样品, 每列代表一个质荷比(m/z)的矩阵X。运用Matlab Toolbox软件的Princomp函数对该矩阵进行分析处理, 并得到主成分分析(principal component analysis, PCA)分析结果。以上相关数据均在Matlab 2010b(7.11)编程中处理实现。

2 结果

2.1 EC及癌旁组织指纹图谱分析 通过Tip-spray-MS技术, 在正离子模式下, 调节好各相关参数, 扫描范围为50-1000 Da, 得到了EC以及癌旁组织的质谱指纹谱图(图1), 谱图提示Tip-spray-MS技术能够检测出组织样品中丰富的化学成分。比较EC及癌旁组织指纹图谱发现, EC组织与癌

■研发前沿

EC早期诊断以及质谱技术在恶性肿瘤诊断中的应用时目前研究的热点, 但Tip-spray-MS在EC早期诊断、快速诊断中的应用国内外文报道罕见。

■相关报道

据国内外文献报道, 质谱技术在肿瘤诊断中的应用广泛, 质谱技术与蛋白质组学结合对各类恶性肿瘤的诊断都有一定的实用价值, 尤其是近年直接电离质谱技术的应用, 对肿瘤的快速分析有了长足的发展。

■创新盘点

本研究小组首次采用Tip-spray-MS技术对EC及癌旁正常组织样品进行研究,通过分析发现EC及正常食管组织的化学成分有一定的差异,并且应用主成分分析(principal component analysis)可以良好区分两组组织。

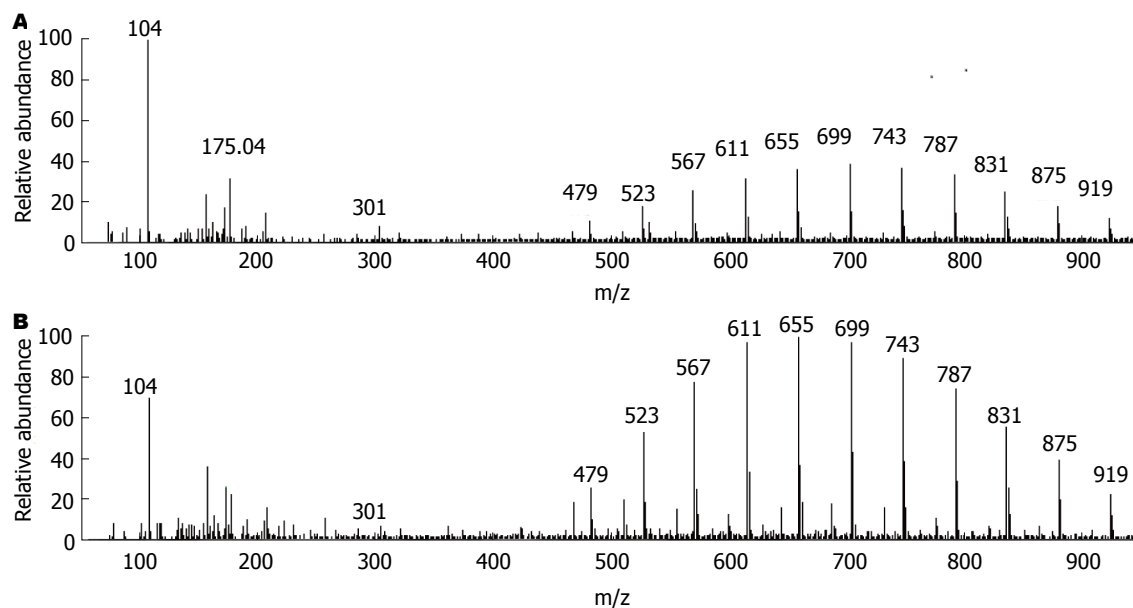


图1 正离子模式下Tip-spray-MS获得食管组织质谱指纹图谱. A: 食管癌旁组织; B: 食管癌组织. Tip-spray-MS: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术.

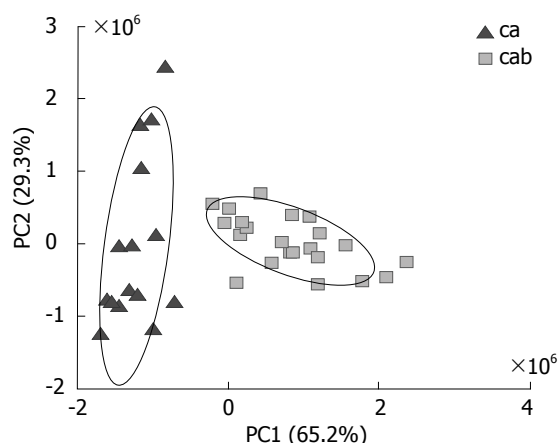


图2 22例食管癌PCA分析二维结果图. ca: 食管癌组织, cab: 食管癌旁组织; PCA: 主成分分析; Tip-spray-MS: 尖端电喷雾萃取电离质谱技术.

旁组织在质荷比(m/z)为104、154、175、611、655、699、743、787、831等处具有明显的相对丰度差异,其中 m/z 611、655、699相对丰度差异最为显著.通过分析其二级质谱及碎片离子发现 m/z 611、655、699全部为吡啶,其中 m/z 611为3-羧酸吡啶, m/z 655为粪卟啉, m/z 699为5-羧酸吡啶.

2.2 PCA 将上述通过Tip-spray-MS得到的EC及癌旁组织的质谱指纹谱图数据行PCA分析, EC组织及其癌旁组织各22例,从图2可知, EC与食管癌旁组织落在不同区域,由PC1(65.2%), PC2(29.3%)约数据的94%的变量可以区分EC及癌旁组织,两组样品主要在PC1上得到较明显区

分,这是各组组织的内部差异所决定的,说明EC与癌旁组织中的中小分子含量的差异还是比较显著的.

3 讨论

我国是世界上EC发病率及死亡率最高的国家^[1],其病理分型主要为鳞状细胞癌,约占EC总数的90%^[9], EC的发病有明显地域差异,华北太行山区为高发区之一,各省的发病率也有一定的地区差异^[10].尽管以外科手术为主的综合治疗措施挽救了大批EC患者的生命,但是由于早期EC症状并不明显,大部分EC患者确诊时已属中晚期,而中晚期与早期EC患者相比,手术后的5年生存率差异显著^[3],早期明确诊断能明显提高EC患者的生存率.现阶段EC的诊断方法较多,比如传统的X线及普通内镜检查,还有增强CT扫描,正电子发射体层扫描^[11]以及新内镜技术的应用如:荧光内镜、超声内镜、色素内镜等,对EC的诊断都有一定的现实价值,在临床上是不可或缺的技术手段,但是以上方法对早期EC的诊断都有一定的局限性,不能兼有快速、在线诊断EC同时又具备高灵敏度、高特异性等特征.

质谱(mass spectrometry, MS)技术是现代检测技术中兼有了高特异性、高灵敏度、高响应速度的普适技术,其对物质分子式的测定有高度准确性,质谱技术在医疗卫生领域的应用普遍,尤其在肿瘤诊断中的应用突出. Tip-spray-MS是随着近年来直接电离质谱技术的发展而被

■应用要点

通过探讨Tip-spray-MS技术在EC诊断中的应用,有助于EC早期快速诊断的研究进展,并为进一步阐明EC发生发展的分子机制提供一定的参考价值.

发明的一种新技术, 其方法的主要特征是无需样品预处理的情况下快速、在线、准确分析其中的化学成分, 降低了成本, 并大大提高了检测速度, 故其在分析化学领域应用广泛^[12,13]. 普渡大学Liu等^[14]通过穿刺活检针取得的内脏组织, 应用Tip-spray-MS技术直接对其实时在线分析, 检测各组织对不同药物敏感性差异并分析了不同药物代谢情况, 组织被活检针取出后, 检测及分析过程在一分钟内可以完成, 其快速在线的特征可见一斑. 本研究就是在前人的技术基础上, 应用Tip-spray-MS技术对食管组织样品进行检测, 企图寻找到一种适用于EC早期诊断的快速方法, 以期提高EC的早诊率并缩短EC诊断的耗时. 通过应用Tip-spray-MS技术, 在正离子模式下, 我们得到了EC及癌旁组织的质谱指纹谱图, 两组谱图的构成基本相似, 其原因是EC与正常食管组织的代谢过程基本相同, 代谢产物的含量及浓度并没有太大的差异, 但是, 恶性肿瘤组织生长迅速, 具有异型性, 并能诱导血管新生, 故EC组织与癌旁正常组织的代谢过程并不完全相同, 两者之间的代谢产物存在一定的差异. 本研究结果显示, EC组织与癌旁组织的指纹谱图在 m/z 为104、154、175、611、655、699、743、787、831等处有明显差异, 其中 m/z 611、655、699最为显著, 这说明Tip-spray-MS技术可检测出组织样品中的各中小分子物质, 对生物碱、氨基酸、糖类、磷脂、多肽及其衍生物等人体常见的代谢物进行分析, 并能反映EC及非癌组织之间的代谢差异. 卟啉作为人体血红素合成的重要中间产物, 广泛参与机体的血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素及过氧化物酶等物质的合成代谢, 而恶性肿瘤组织特殊的生长方式, 对以上各物质都有特别强的亲和力, 并比正常组织的合成所需要的量显著增多^[15], 本研究结果提示EC组织中卟啉的含量较正常食管组织明显增多.

PCA就是将所有变量重新组合成新几个综合变量来代替原始变量, 同时根据实际需要从中取几个较少的综合变量尽可能多地反映原来变量信息的一种统计学方法, 其旨在利用降维的思想, 把多指标转化为少数几个综合指标, 将原有的复杂数据降维, 揭示隐藏在复杂数据背后的简单结构, 简化复杂问题. 本研究从Tip-spray-MS获得的EC及癌旁组织两组指纹谱图中提取的相关生物信息, 通过PCA方法的处理, 建

立了EC与癌旁组织的识别模式. 结果说明, PCA方法可以良好区分两组指纹谱提供的数据差异.

总之, Tip-spray-MS技术在无需样品预处理的情况下, 能直接、快速、准确地分析食管组织样品, 并具有高度灵敏性, 可为EC的早期筛查、快速诊断提供技术参考, 卟啉作为机体生物代谢的重要分子, 可能参与EC的发生发展过程, 但其具体机制有待进一步研究.

4 参考文献

- 1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169
- 2 Law S, Wong J. The current management of esophageal cancer. *Adv Surg* 2007; 41: 93-119 [PMID: 17972559 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.06.007]
- 3 王国清. 食管癌高发地区早诊早治30年临床研究经验. 中国医学科学院学报 2001; 23: 69-72
- 4 魏益平, 鄢飞燕, 贾滨, 丁健桦, 彭金华, 陈焕文, 徐建军. 痰液直接电喷雾萃取电离质谱分析在非小细胞癌诊断中的应用. 中华实验外科杂志 2011; 3: 422-424
- 5 Wong MY, Tang HW, Man SH, Lam CW, Che CM, Ng KM. Electrospray ionization on porous spraying tips for direct sample analysis by mass spectrometry: enhanced detection sensitivity and selectivity using hydrophobic/hydrophilic materials as spraying tips. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2013; 27: 713-721 [PMID: 23418151 DOI: 10.1002/rcm.6497]
- 6 Yang Q, Wang H, Maas JD, Chappell WJ, Manicke NE, Cooks RG, Ouyang Z. Paper spray ionization devices for direct, biomedical analysis using mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 2012; 312: 201-207 [PMID: 22350566 DOI: 10.1002/ange.200906314]
- 7 Hu B, So PK, Chen H, Yao ZP. Electrospray ionization using wooden tips. *Anal Chem* 2011; 83: 8201-8207 [PMID: 21923155 DOI: 10.1021/ac2017713]
- 8 Hu B, Lai YH, So PK, Chen HW, Yao ZP. Direct ionization of biological tissue for mass spectrometric analysis. *Analytical Chemistry* 2012; 137: 3613-3619 [DOI: 10.1039/c2an16223g]
- 9 Li LW, Li YY, Li XY, Zhang CP, Zhou Y, Lu SH. A novel tumor suppressor gene ECRG4 interacts directly with TMPRSS11A (ECRG1) to inhibit cancer cell growth in esophageal carcinoma. *BMC Cancer* 2011; 11: 52 [PMID: 21288367 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.38.014]
- 10 邹小农, 陈万青, 张思维, 李连弟, 鲁凤珠, 陈永红, 赵平. 中国部分市县1998-2002年食管癌发病与死亡. 中国肿瘤 2007; 16: 142-146
- 11 Toyoda Y, Nakayama T, Kusunoki Y, Iso H, Suzuki T. Sensitivity and specificity of lung cancer screening using chest low-dose computed tomography. *Br J Cancer* 2008; 98: 1602-1607 [PMID: 18475292 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604351]
- 12 Huang MZ, Yuan CH, Cheng SC, Cho YT, Shiea J. Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem* (Palo Alto Calif) 2010; 3: 43-65 [PMID: 20636033 DOI: 10.1146/annurev.anchem.111808.073702]
- 13 Alberici RM, Simas RC, Sanvido GB, Romão W, Lalli PM, Benassi M, Cunha IB, Eberlin MN. Ambient mass spectrometry: bringing MS into the "real

■同行评价

本文采用Tip-spray-MS技术对EC及癌旁组织的谱图进行分析, 得出两者间的显著差异质荷比(m/z)区间, 为EC诊断提供一种新的手段, 并发现卟啉含量可能为区分两组组织的物质技术, 具有一定临床价值及学术价值.

- world". *Anal Bioanal Chem* 2010; 398: 265-294 [PMID: 20521143 DOI: 0.1007/s00216-010-3808-3]
- 14 Liu J, Cooks RG, Ouyang Z. Biological tissue diagnostics using needle biopsy and spray ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 2011; 83: 9221-9225 [PMID: 22103750 DOI: 10.1021/ac202626f]
- 15 Danton M, Lim CK. Porphyrin profiles in blood, urine and faeces by HPLC/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2006; 20: 612-621 [PMID: 16779779 DOI: 10.1002/bmc]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征

李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董菁, 李东良, 潘晨, 吕旭江, 郑智勇

李鑫静, 曲利娟, 郑智勇, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025
郑雄伟, 福建省肿瘤医院病理科 福建省福州市 350014
陈丽红, 福建医科大学病理系 福建省福州市 350004
董菁, 福建医科大学附属第一医院肝病中心肝内科 福建省福州市 350005
李东良, 福建医科大学福总临床医学院(南京军区福州总医院)肝胆内科 福建省福州市 350025
潘晨, 吕旭江, 福州市传染病医院 福建省福州市 350025
李鑫静, 福建医科大学本科实习生, 现为福建医科大学病理学硕士研究生, 主要从事病理学的相关研究。
作者贡献分布: 本课题由郑智勇设计; 研究过程有李鑫静、郑智勇、曲利娟、郑雄伟、陈丽红、李东良、潘晨及吕旭江操作完成; 本论文写作由李鑫静完成; 郑智勇负责审校。
通讯作者: 郑智勇, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 350025, 福建省福州市西二环路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科。768203566@qq.com
收稿日期: 2013-04-01 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis

Xin-Jing Li, Li-Juan Qu, Xiong-Wei Zheng,
Li-Hong Chen, Jing Dong, Dong-Liang Li, Chen Pan,
Xu-Jiang Lv, Zhi-Yong Zheng

Xin-Jing Li, Li-Juan Qu, Zhi-Yong Zheng, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Xiong-Wei Zheng, Department of Pathology, Fujian Provincial Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian Province, China
Li-Hong Chen, Department of Pathology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China
Jing Dong, Liver Center, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Dong-Liang Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Chen Pan, Xu-Jiang Lv, Fuzhou Hospital for Infectious Diseases, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Correspondence to: Zhi-Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 North Xi'erhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. 768203566@qq.com
Received: 2013-04-01 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepa-

titis (CAEBVH) as well as its diagnosis, differential diagnosis, treatment and prognosis.

METHODS: We presented the clinical manifestations, histopathological characteristics, diagnosis, treatment and prognosis of two cases of CAEBVH. A literature review was also performed to summarize the characteristics of this clinical entity.

RESULTS: Of two young male patients, one presented with intermittent fever, jaundice, hepatosplenomegaly and abnormal liver function, the other had abnormal liver biochemical tests and symptoms including edema of lower limbs, yellowish urine, fatigue, splenomegaly, and central nervous system symptoms. Histopathologic examination of liver biopsies revealed varying degrees of macrovesicular steatosis and fibrosis, scattered lobular necrosis, beaded sinusoidal lymphocytic infiltration, portal inflammation and interface activity. Electron microscopic investigation showed chronic hepatitis along with steatosis of liver cells and fibrosis. No myelinoid body, special lysosome, glycogen storage or hepatitis B surface antigens were found. *In situ* hybridization (ISH) for EBV early RNA (EBER) showed EBER-positive nuclei of lymphocytes. Both patients ended in death. The course was 2 years and 4 months for case 1 and 13 years and 5 mo for case 2.

CONCLUSION: CAEBVH has no specific clinical features, which makes it easy to reach a misdiagnosis. Pathologic features include macrovesicular steatosis, fibrosis, beaded sinusoidal lymphocytes infiltration, scattered lobular necrosis, interface activity and portal inflammation. EBER-positive nuclei of lymphocytes can be detected by ISH. This disease has a poor prognosis and early diagnosis is pivotal for appropriate clinical management.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epstein-Barr virus; Chronic infection; Viral hepatitis; Central nervous system symptoms

■背景资料

慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)并不多见,伴有中枢神经系统症状者更为罕见,该病临床表现和病理特征均缺乏特异性,容易引起临床医生和病理医生的误诊。

■同行评议者

张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

■ 研发前沿

应用同种异基因外周血干细胞移植、骨髓移植或脐带血干细胞移植进行免疫重建以消除EB病毒(Epstein-Barr virus)感染细胞有望成为今后治疗CAEBV主要方法。

Li XJ, Qu LJ, Zheng XW, Chen LH, Dong J, Li DL, Pan C, Lv XJ, Zheng ZY. Clinicopathologic features of chronic active Epstein-Barr virus hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2325-2330 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2325>

摘要

目的: 探讨慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)的临床病理特征、诊断、鉴别诊断、治疗方法和预后。

方法: 报道2例CAEBVH, 总结其临床表现、病理特征、诊断及鉴别诊断、治疗及预后, 并结合文献进行分析讨论。

结果: 两例患者为青少年男性, 例1主要表现为发热、黄疸、肝脾肿大、肝功能异常, 例2首先以血生化检查肝功能异常为特征, 后期出现双下肢水肿、尿黄、乏力、脾大, 伴中枢神经系统症状。活检肝组织于光镜下观察: 两例均出现不同程度的肝细胞大泡性脂肪变性和纤维组织增生, 肝小叶内可见点灶状坏死, 肝窦内成串淋巴细胞浸润, 界板炎和汇管区炎症。电镜观察: 慢性肝炎, 肝细胞脂肪变性及纤维增生, 未见髓鞘样小体、特征性溶酶体、乙肝表面抗原等特征性病变结构。EBER原位杂交均检出细胞核阳性的淋巴细胞。例1病程为2年零4 mo, 例2病程为13年零5 mo, 最终均死亡。

结论: 慢性活动性EB病毒感染肝炎的临床表现不具有特异性, 易于误诊或漏诊。病理学特点为大泡性脂肪变, 肝窦内成串淋巴细胞浸润, 肝小叶点灶状坏死, 界板炎和汇管区炎症, 以及EBER原位杂交均检出细胞核阳性的淋巴细胞。该病预后差, 早期诊断是治疗的关键。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: EB病毒; 慢性感染; 病毒性肝炎; 中枢神经系统症状

核心提示: 对于无法用其他原因解释的反复发热、肝功能异常等症状, 伴或不伴神经系统损害症状时都应考虑到慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis)的可能, 以实现早期诊断, 为临床治疗提供合适的时机。

李鑫静, 曲利娟, 郑雄伟, 陈丽红, 董菁, 李东良, 潘晨, 吕旭江, 郑智勇. 慢性活动性EB病毒性肝炎的临床病理特征. *世界华人消化杂志* 2013; 21(23): 2325-2330 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2325>

[wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2325.asp) DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2325>

0 引言

慢性活动性EB病毒性肝炎(chronic active Epstein-Barr virus hepatitis, CAEBVH)少见, 伴有明显中枢神经系统症状者更鲜有报道^[1], 因此临床上容易误诊或漏诊。现报道我科诊断的两例CAEBVH, 其中1例后期伴有明显的中枢神经系统症状, 结合文献进行分析讨论, 以提高对该疾病的认识。

1 材料和方法

1.1 材料 选取南京军区福州总医院病理科2011-2012年诊治的2例慢性活动性EB病毒性肝炎

1.2 方法 2例肝穿组织石蜡切片行HE、网纤-Masson染色, EliVision法免疫组织化学HBsAg、HBcAg染色, 罗丹宁铜染色, 普鲁士蓝铁染色, EBER原位杂交检测; 透射电镜检查。免疫组织化学染色所用HBsAg、HBcAg和EliVision试剂盒均购自福州迈新公司, EBER原位杂交试剂盒购自福州泰普生物科学有限公司。

2 结果

2.1 临床资料 病例1, 男, 24岁, 以“反复眼黄、尿黄2年, 加剧并疲乏、腹胀2 wk.”为主诉入院。两年前无明显诱因出现眼黄、尿黄、皮肤黄就诊当地医院, 血培养检出液化沙雷菌, 考虑败血症, 予抗感染治疗, 症状缓解后出院。此后反复出现上述症状并伴有发热, 其中一次最高体温达40℃, 持续20 d, 多次住院予抗感染及保肝等治疗, 病情好转后出院, 但定期复查肝功能仍有波动。期间3次肝穿, 病理诊断为: 中度慢性肝炎伴肝细胞大泡性脂肪变(第1次穿刺G3、S0、F3, 第2次G3、S1、F3, 第3次G3、S1、F4); 免疫组织化学HBsAg、HBcAg染色均阴性, 病因结合临床。本次入院查体: 全身皮肤无黄染, 巩膜轻度黄染; 肝右肋下4 cm、剑突下4 cm可触及, 质地偏实; 实验室检查: 淋巴细胞59.34%, 粒细胞33.64%, 粒细胞计数1.36/L, 尿胆红素强阳性, 尿胆原16 μmol/L, 总胆红素(total bilirubin, TBIL)98 μmol/L, 结合胆红素(conjugative bilirubin, DBIL)71.3 μmol/L, 白蛋白(albumin, ALB)34.4 g/L, 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)416 U/L, 谷草转氨酶(aspartate amino-transferase, AST)436 U/L, 谷酰转

肽酶(glutamyltransferase, GGT)466 U/L, 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)1284 U/L, 铜蓝蛋白428 mg/L, 内毒素定量测定、肺炎支原体抗体、肝病自身抗体、ds-DNA、ANA谱、甲型肝炎抗体、丙型肝炎抗体、戊型肝炎抗体及乙型肝炎两对半均阴性, 巨细胞病毒IgG阳性、IgM阴性, EB病毒抗体IgA 3.30 S/CO(参考值S/CO<1), 血铜24.89 $\mu\text{mol/L}$; 彩超显示肝脾肿大, 脂肪肝, 少量腹水。行第4次肝穿, 送光镜病理检查。

病例2, 男, 23岁, 以“反复肝功异常13年余, 乏力、纳差、腹胀、肢肿、尿黄及发作性意识不清伴行走困难3 mo余”为主诉, 坐轮椅送入院。13年前体检发现肝功异常, HBsAg阳性, B超提示肝脾肿大; 第1次肝穿病理诊断“轻度慢性肝炎(G1, S0), 结合血清学检查结果符合乙型肝炎”, 临床诊断“肝硬化活动期”; 之后多次复查肝功能指标反复轻度异常, 期间服用保肝、抗纤维化等药物治疗。5年前复查肝功ALT 45 U/L, AST 78 U/L, 铜蓝蛋白0.65/L, CMV IgM、IgG均阴性, 血清HCV-RNA、HBsAg和HBcAg均阴性; 行第2次肝穿刺术, 病理诊断“病因不明中度慢性肝炎(G3, S2-3), HBsAg和HBcAg均阴性”; 继续服用保肝、抗纤维化等药物治疗, 期间肝功能ALT 43-96 U/L, AST 39-93 U/L。3 mo前出现乏力不适, 食欲减退, 伴眼黄、尿黄, 并无明显诱因出现发作性意识不清伴行走困难; 就诊上海某大医院, 拟诊“异常代谢性脑脊髓疾病: 遗传代谢性脑病(尼曼匹克C型可能)”, 行头颅MRI、串联质谱检测、尼曼匹克病及戈谢氏病酶学检查但无阳性发现, 予“美能、多烯磷脂酰胆碱及保肝治疗”, 症状无明显改善。本次入院查体: 神志清楚, 对答尚可, 智力下降, 言语不清, 定向力、计算力、记忆力均减退, 皮肤巩膜中度黄染, 见肝掌, 右肋下未触及肝脏, 左肋缘下5.0 cm触及脾脏, 腹部移动性浊音阳性, 双下肢中度凹陷性水肿, 双上肢肌力4级, 双下肢2级, 全身肌张力升高, 四肢腱反射亢进, 踝震挛阳性, 四肢感觉无异常, 巴彬斯基征阳性; 实验室检查: ALB 14 g/L, GLB 20 g/L, ALT 182 U/L, AST 266 U/L, GGT 93 U/L, AKP 362 U/L, CHE 1178 U/L, 血尿素氮2.5 mmol/L, Cr 34 $\mu\text{mol/L}$, PT 16.5 s, APTT 45.2 s, 肝纤维化PIIIP 171.3 ng/mL, 肝炎病毒相关抗体均阴性, 乙肝病毒DNA<420 IU/mL, HIV-Ag/Ab阴性。上腹部CT示肝硬化, 脾脏增大, 胃底静脉曲张, 肝脏

脂肪浸润。行第3次肝穿, 送光镜及电镜检查。

2.2 光镜 两例肝穿组织形态学大体一致, 肝小叶结构存在, 肝细胞水肿, 显著大泡性脂肪变性, 中度肝细胞内淤胆, 中度点灶状坏死; 肝小叶及汇管区较多淋巴单核细胞、少量中性粒细胞、浆细胞及嗜酸粒细胞浸润, 肝窦内Kupffer细胞增多并见“串样”排列的淋巴细胞; 汇管区轻度纤维组织增生(图1)。例2还可见轻度界板炎和轻度桥接坏死; 门-门型纤维间隔形成。

2.3 免疫组织化学 HBsAg、HBcAg染色均阴性。

2.4 特染 铜、铁染色均阴性。

2.5 电镜 例1肝小叶结构存在, 肝细胞显著大泡性脂滴, 明显水肿、空泡变性, 肝细胞较多核空泡变性, 肝细胞糖原增多, 线粒体形态大小正常; 窦间隙少量炎症细胞浸润, 局灶纤维组织增多; 未见汇管区。例2肝细胞水肿变性, 线粒体增多, 糖原稍多, 中量大小泡性脂滴, 明显淤胆, 点灶性坏死; 窦间隙Kupffer细胞增多, 肝细胞间纤维组织明显增多; 汇管区扩大, 纤维组织增生, 少许炎症细胞浸润。

2.6 原位杂交EBER检测 肝组织中浸润淋巴细胞核EBER阳性(占5%-10%), 阳性细胞分布散在或聚集(图2)。再取两例患者此前的所有肝穿标本行原位杂交EBER检测, 均可见到少量淋巴细胞核阳性。

2.7 病理诊断 病例1(第4次肝穿)慢性活动性EB病毒性肝炎(G3、S1、F4)。请临床查血清EB病毒DNA含量, 为462000 IU/mL(正常值<1000 IU/mL)。临床给予保肝、提高免疫力、抗EB病毒等治疗, 病情平稳后出院。此后4 mo内患者又多次发病, 先后就诊于多家医院。后期因出现反复消化系出血, 病情危重, 患者及家属放弃治疗。病例2(第3次肝穿)慢性活动性EB病毒性肝炎(G3, S2, F2)。请临床查血清EB病毒DNA含量, 为57700 IU/mL。临床给予保肝、抗病毒及对症治疗, 但治疗效果不佳, 中枢神经系统损害进行性加重, 2 mo后因循环衰竭病逝。

3 讨论

3.1 临床特点 EB病毒感染通常引起急性感染, 发病年龄常在5岁以前, 无明显症状或表现为传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis disease, IM), 病程具有自限性; 少部分病人可发展为慢性活动性EB病毒感染(chronic active EB virus infection, CAEBV), 以持续或反复的IM样症状为主要特征, 并可累及全身多系统、器

■相关报道

2007年Suh等对EB病毒性肝炎的肝组织病理特征进行了详细描述。

■创新盘点

本文主要对2例CAEBVH的临床诊疗经过、病理形态学特征及病毒学检查结果进行总结分析,并复习相关文献,探讨CAEBVH的临床病理特征及病毒学检查特点。

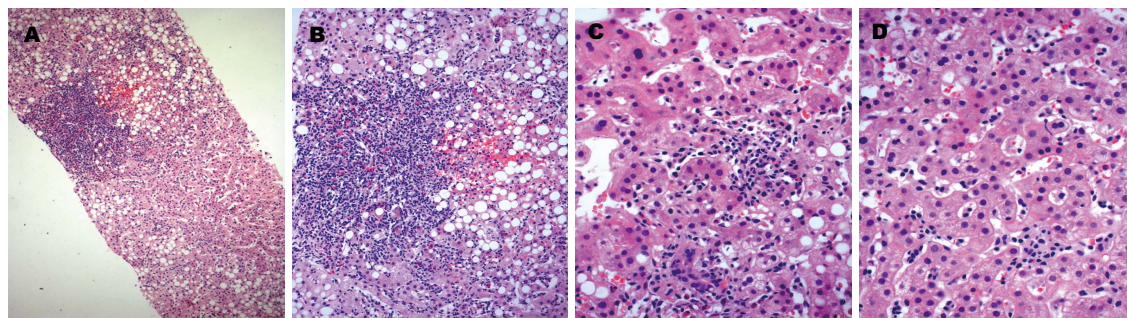


图1 肝细胞显著大泡性脂肪变性,点灶状坏死,肝细胞内淤胆,肝窦内见“串样”排列的淋巴细胞,汇管区淋巴单核细胞集结(HE染色)。A: $\times 40$; B: $\times 200$; C, D: $\times 400$ 。

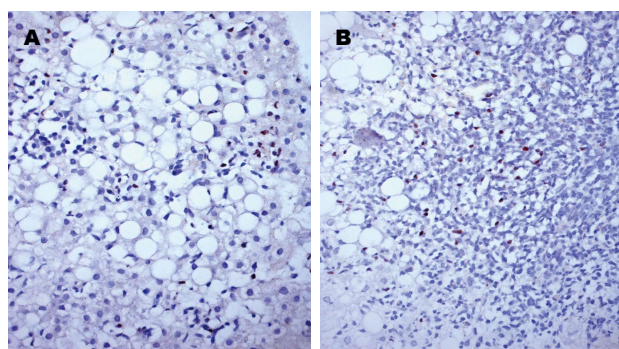


图2 炎症细胞中散在EBER阳性淋巴细胞。A, B: $\times 400$ 。

官^[1,2]。CAEBV临床表现多样,突出表现主要有反复发热、淋巴结病变、肝功能异常、肝脾肿大、间质性肺炎等,其他少见症状有中枢神经系统病变、心肌炎、肠穿孔等;实验室检查出现EBV-DNA水平升高和EBV相关抗体滴度异常升高^[2-4]。CAEBV引起的肝炎临床表现常无特异性,易误诊、漏诊。本组两例均为青壮年,病例1表现为反复发热、黄疸、肝功能异常、肝脾肿大,而无其他特异表现,每次住院抗感染、保肝等治疗症状可暂时缓解,但病情反复,最终因肝衰竭、消化道大出血死亡。病例2病程长达13年,晚期时除了乏力、纳差、腹胀、肢肿、尿黄等肝硬化相关症状、体征外,同时伴无明显诱因的发作性意识不清,伴有行走困难等中枢神经系统损害表现,可能由于EB病毒脑炎所致。该患者出现中枢神经系统损害症状后,病情进展迅速,发病到死亡仅5 mo左右。中枢神经系统受累是CAEBV较为少见的合并症之一,常给诊断增加困难,同时可能提示疾病预后不佳。

3.2 病理特征 2007年Suh等^[5]对8例EB病毒性肝炎的肝活检组织形态进行了详细描述,每例都有汇管区炎症,炎症细胞以淋巴细胞主,特征性肝窦内淋巴细胞浸润;其他还可有肝细胞脂肪变性、气球样变、肝小叶内小肉芽肿和胆管等改变。EBER原位杂交可见阳性细胞或PCR检测

EBV-DNA阳性。本组两例也出现类似病理特征:汇管区以淋巴细胞为主要浸润细胞,肝窦内串珠样淋巴细胞浸润,肝细胞点灶状坏死,肝轻度界板炎;另外在疾病不同阶段还出现不同程度的肝细胞大泡性脂肪变性和纤维组织增生;肝组织内EBER原位杂交检出阳性细胞。透射电镜检查均表现为慢性肝炎,脂肪变性,而无髓鞘样小体、特征性溶酶体、乙型肝炎表面抗原等特征性病变结构。

通过对比两例患者的多次肝活检组织学发现,肝小叶及汇管区炎症在保肝、抗感染等治疗后有所减轻,而肝细胞脂肪变及纤维组织增生随病程逐步进展,提示肝损害呈慢性不可逆发展。两例患者前后数次肝活检组织行EBER原位杂交都检测出阳性细胞,即在病变早期肝组织内就可检测EB病毒感染阳性细胞,且肝损害逐步进展,这可能提示患者长期处于慢性活动性EB病毒感染状态,使肝脏病变慢性进行性发展,到后期肝脏严重硬化。CAEBVH虽然形态学无特异表现,但肝窦内出现“串珠样”排列的单个核细胞可提示需对疾病进一步行病毒学检查^[5]。

3.3 诊断与鉴别诊断 目前CAEBV的诊断多采用2005年Okano等^[6]提出的诊断标准(必须同时满足以下3个标准): (1)持续或反复IM样临床表现:

主要为长期或反复发热、淋巴结肿大、肝脾肿大;一些患者也出现血液系统、消化系统、神经系统、肺部、心血管系统、眼、耳和皮肤等并发症;(2)特定EBV抗体谱(anti-EBV antibody patterns): VCA-IgG抗体和EA-IgG抗体滴度显著升高;和或受累组织(包括血浆和外周血细胞)EBV拷贝数升高;(3)临床表现不能用其他慢性疾病解释。对于诊断EB病毒性肝炎,而Kimura H等^[7]对30例CAEBV患者的分析中,有部分患者EB病毒相关抗体滴度并不高,认为抗体滴度改变并非诊断必需并指出外周血EBV DNA >102.5 copies/ μ g可作为CAEBV的诊断依据。Drebbler等^[8]则提出,血生化检查肝功能异常、EB病毒血清学检查阳性、典型的组织学形态及EBV-DNA或EBER检查阳性是诊断必不可少的4个指标。

本组2例临床表现多样,临床上曾长期未能对病因做出正确诊断,最后根据肝窦内串珠样淋巴细胞排列方式的提示,通过原位杂交方法检测出EBER阳性淋巴细胞,最终确诊为CAEBVH;此后再查血清EBV-DNA含量均显著升高。诊断CAEBVH需排除其他疾病所致肝炎,比如自身免疫性肝炎,是以肝细胞损害为主的慢性进行性肝炎^[9],其临床表现和病毒学检查都可能与CAEBVH相似,Chiba等^[10]即报道过CAEBV引起的肝炎被误诊为自身免疫性肝炎。而本组通过自身免疫抗体及其他病毒相关抗体检测等检验指标、免疫组织化学染色和透射电镜检查排除了自身免疫性肝炎、Wilson病、糖原累积症及甲乙丙戊型肝炎等疾病。此外例2患者晚期伴有明显中枢神经系统症状,需要与一些先天性代谢性疾病如尼曼-匹克病、戈谢氏病等鉴别,这些疾病常有肝损害、肝脾肿大等表现,并可出现不同程度的神经系统症状;鉴别要点为尼曼-匹克病和戈谢氏病患者的外周单核吞噬细胞、骨髓及肝组织中可见特征性因脂类蓄积于吞噬细胞内而形成的尼曼-匹克细胞或戈谢氏细胞,肝活检EBER原位杂交无阳性细胞。本组病例提示对于无法用其他原因解释的反复发热、肝功能异常等症状,伴或不伴神经系统损害症状时都应考虑到CAEBV的可能。

3.4 治疗及预后 CAEBV预后差,病死率较高,而目前针对慢性活动性EB病毒感染相关疾病的规范治疗方案尚待建立,抗病毒药物、免疫制剂、等治疗无明显效果或只有短暂缓解作用^[3,11]。本报道例1患者在诊断结果明确后临床给予保肝、提高免疫力、抗EB病毒等治疗,但病情反

复,后期因反复消化道出血,病情危重,患者及家属放弃治疗。病例2患者在诊断明确后经抗EB病毒、抗肝纤维化、提高免疫力等治疗,病情无明显改善,明确诊断到死亡的时间仅2 mo。关于其他治疗措施,有输注自体EBV特异性细胞毒细胞(EBV-CTL)治疗成功的报道^[12,13]。而近年更多的研究热点在于通过同种异基因外周血干细胞移植、骨髓移植或脐带血干细胞移植达到免疫重建,消除EBV感染细胞^[3,14-16]。通过以上方法重建机体对EB病毒的有效免疫或成为今后治疗的主要选择,但这些方法治疗CAEBVH的效果受到治疗时机、移植后并发症等因素的影响。早期诊断是免疫重建治疗取得合适时机的关键。实现早期诊断、早期治疗则有赖于更全面的认识该疾病,提高对该疾病的敏感性。

志谢: 例1的病理诊断承蒙上海东方肝胆医院病理科丛文铭教授的指导,例2的病理诊断承蒙北京中日友好医院病理科王泰龄教授的指导,特此志谢!

4 参考文献

- 1 彭向欣,王泰龄. EB病毒性肝炎. 肝脏疾病临床病理学. 北京: 化学工业出版社, 2010: 118-126
- 2 Kimura H, Morishima T, Kanegane H, Ohga S, Hoshino Y, Maeda A, Imai S, Okano M, Morio T, Yokota S, Tsuchiya S, Yachie A, Imashuku S, Kawa K, Wakiguchi H. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2003; 187: 527-533 [PMID: 12599068 DOI: 10.1086/367988]
- 3 Cohen JL, Jaffe ES, Dale JK, Pittaluga S, Heslop HE, Rooney CM, Gottschalk S, Bollard CM, Rao VK, Marques A, Burbelo PD, Turk SP, Fulton R, Wayne AS, Little RF, Cairo MS, El-Mallawany NK, Fowler D, Sportes C, Bishop MR, Wilson W, Straus SE. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States. *Blood* 2011; 117: 5835-5849 [PMID: 21454450 DOI: 10.1182/blood-2010-11-316745]
- 4 Kimura H, Hoshino Y, Hara S, Sugaya N, Kawada J, Shibata Y, Kojima S, Nagasaka T, Kuzushima K, Morishima T. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2005; 191: 531-539 [PMID: 15655776]
- 5 Suh N, Liapis H, Misdraji J, Brunt EM, Wang HL. Epstein-Barr virus hepatitis: diagnostic value of in situ hybridization, polymerase chain reaction, and immunohistochemistry on liver biopsy from immunocompetent patients. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1403-1409 [PMID: 17721196 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31802ffdd5]
- 6 Okano M, Kawa K, Kimura H, Yachie A, Wakiguchi H, Maeda A, Imai S, Ohga S, Kanegane H, Tsuchiya S, Morio T, Mori M, Yokota S, Imashuku S. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol* 2005; 80:

■应用要点
CAEBVH的临床表现和组织形态学表现无特异性,容易误诊、漏诊。在原因不明的肝炎的诊断中应想到此病的可能。组织病理特征结合病毒学检查有助于鉴别诊断。

■同行评价

本文准确反映了研究工作的科学问题和特定内容, 简明而有特色。文章条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论。尤其对检验手段相对匮乏的基层医院医生帮助较大。

- 7 Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, Tsuge I, Okamura T, Kawa K, Morishima T. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection. *Blood* 2001; 98: 280-286 [PMID: 11435294]
- 8 Drebber U, Kasper HU, Krupacz J, Haferkamp K, Kern MA, Steffen HM, Quasdorff M, Zur Hausen A, Odenthal M, Dienes HP. The role of Epstein-Barr virus in acute and chronic hepatitis. *J Hepatol* 2006; 44: 879-885 [PMID: 16554102 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.02.006]
- 9 崔俊, 吴承荣, 刘运祥, 黄留业. 自身免疫性肝病的临床及影像学分析43例. *世界华人消化杂志* 2009; 22: 2320-2325
- 10 Chiba T, Goto S, Yokosuka O, Imazeki F, Tanaka M, Fukai K, Takahashi Y, Tsujimura H, Saisho H. Fatal chronic active Epstein-Barr virus infection mimicking autoimmune hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 225-228 [PMID: 15075999 DOI: 10.1097/00042737-200402000-00017]
- 11 Okano M. Therapeutic approaches for severe Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Hematol Oncol* 1997; 14: 109-119 [PMID: 9089739 DOI: 10.3109/08880019709030897]
- 12 Savoldo B, Huls MH, Liu Z, Okamura T, Volk HD, Reinke P, Sabat R, Babel N, Jones JF, Webster-Cyriac J, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM. Autologous Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T cells for the treatment of persistent active EBV infection. *Blood* 2002; 100: 4059-4066 [PMID: 12393655 DOI: 10.1182/blood-2002-01-0039]
- 13 Hagihara M, Tsuchiya T, Hyodo O, Ueda Y, Tazume K, Masui A, Kanemura A, Yoshida F, Takashimizu S, Matsumoto S, Kato S, Hotta T. Clinical effects of infusing anti-Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T-lymphocytes into patients with severe chronic active EBV infection. *Int J Hematol* 2003; 78: 62-68 [PMID: 12894853 DOI: 10.1007/BF02983242]
- 14 Taketani T, Kikuchi A, Inatomi J, Hanada R, Kawaguchi H, Ida K, Oh-Ishi T, Arai T, Kishimoto H, Yamamoto K. Chronic active Epstein-Barr virus infection (CAEBV) successfully treated with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 531-533 [PMID: 11960276 DOI: 10.1038/sj.bmt.1703392]
- 15 Ishimura M, Ohga S, Nomura A, Toubou T, Morihana E, Saito Y, Nishio H, Ide M, Takada H, Hara T. Successful umbilical cord blood transplantation for severe chronic active Epstein-Barr virus infection after the double failure of hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2005; 80: 207-212 [PMID: 16247742 DOI: 10.1002/ajh.20430]
- 16 Sato E, Ohga S, Kuroda H, Yoshida F, Nishimura M, Nagasawa M, Inoue M, Kawa K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Epstein-Barr virus-associated T/natural killer-cell lymphoproliferative disease in Japan. *Am J Hematol* 2008; 83: 721-727 [PMID: 18626884 DOI: 10.1002/ajh.21247]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科 湖北省武汉市 430034

姜齐宏, 副主任医师, 主要从事消化内科及内镜的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由姜齐宏设计; 研究过程由姜齐宏与陈艳实施完成; 数据分析由陈艳、王爱祥及骆中华完成; 本文写作由姜齐宏、陈艳、王爱祥及骆中华共同完成。

通讯作者: 陈艳, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路50号, 华中科技大学同济医学院附属普爱医院消化内科。cy0226@163.com

收稿日期: 2013-07-10 修回日期: 2013-07-23

接受日期: 2013-07-26 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Zhong-Hua Luo

Qi-Hong Jiang, Yan Chen, Ai-Xiang Wang, Zhong-Hua Luo, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Yan Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Pu'ai Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 50 Gutian Sanlu, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. cy0226@163.com
Received: 2013-07-10 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-07-26 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in the treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with clinical anxiety.

METHODS: One hundred and eighty young or middle-aged patients were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was treated with aluminum magnesium car-

bonate, esomeprazole and Deanxit, group B was treated with esomeprazole and Deanxit, and group C was treated with aluminum magnesium carbonate and Deanxit. Clinical remission, extent of repair of the esophageal and gastric mucosa and adverse reactions were compared between the three groups.

RESULTS: After treatment, the number of responders was 58 (96.67%) in group A, 49 (81.67%) in group B, 37 (61.67%) in group C, and the number of patients developing recurrence in the three groups was 1, 8 and 23, respectively. The total response rate, recurrence rate, the extent of repair of the esophageal and gastric mucosa, and the incidence of adverse reactions were better in group A than in groups B and C (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit are effective in the treatment of gastroesophageal reflux disease with anxiety in terms of symptom relief and repair of the esophageal and gastric mucosa.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Triple therapy; Efficacy

Jiang QH, Chen Y, Wang AX, Luo ZH. Efficacy of combined aluminum magnesium carbonate, esomeprazole and Deanxit in treatment of gastroesophageal reflux disease in young or middle-aged patients with anxiety: An analysis of 60 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2331-2334 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2331.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2331>

摘要

目的: 研究分析铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪的临床疗效。

方法: 将180例中青年患者随机分为3组。A组60例, 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治

■背景资料

近年来, 胃食管反流病在中青年患者中发病呈上升趋势, 且患者常伴有焦虑、失眠等精神症状。传统的质子泵抑制剂和抗反流药物联合治疗效果差强人意, 因此, 本文期望探索出快速控制症状的临床药物治疗方法。

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

■相关报道

有研究报道, 抗焦虑联合兰索拉唑、依托必利治疗难治性胃食管反流病的取得较好临床疗效观察。

疗; B组60例, 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组60例, 采用铝碳酸镁+黛力新治疗。观察3组患者的临床症状缓解情况、食管黏膜和胃黏膜的修复程度及其不良反应。

结果: 经治疗后, A组有效58例, 总有效率为96.67%, 复发1例; B组有效49例, 总有效率为81.67%, 复发8例; C组有效37例, 总有效率为61.67%, 复发23例, 经过比较分析, A组的有效率、复发率及食管黏膜和胃黏膜的修复程度均好于B、C组($P<0.05$), 且不良反应较少。

结论: 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪, 效果明显, 可明显缓解症状, 修复食管黏膜和胃黏膜。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃食管反流病; 三联疗法; 疗效分析

核心提示: 胃食管黏膜损伤与接触酸性和/或碱性反流物相关, 且中青年胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)患者多伴有焦虑情绪, 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪, 效果明显, 可明显缓解症状, 修复食管黏膜和胃黏膜。

姜齐宏, 陈艳, 王爱祥, 骆中华. 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗胃食管反流病60例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2331-2334 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2331.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2331>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃、十二指肠内容物反流入食管引起的以烧心、反酸为主要特征的临床综合征, 分生理性和病理性两种。其典型症状为烧心、反酸、反胃、胸痛、上腹部疼痛和恶心等, 患者常伴有焦虑、抑郁、失眠等精神症状。亚洲地区以每周至少发生一次烧心或反酸为标准, 亚洲大部分地区GERD患病率在2.5%-7.1%, 近年来呈上升趋势^[1]。该病已成为严重影响中青年患者生活、工作、学习等质量的消化道疾病之一。本文对铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病的临床疗效观察, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-06/2012-12于我院消化内科就诊的胃食管反流病中青年患者共180例。

入选原则: (1)年龄18-59岁, 具有明显烧心和(或)反酸、吞咽困难和胸痛等症状, 伴有焦虑、失眠; (2)内镜检查证实为GERD, 食管炎分级^[2]标准为: A级, 黏膜皱襞表面黏膜破损, 直径 <5 mm; B级, 黏膜皱襞表面黏膜破损, 直径 >5 mm; C级, 黏膜破损互相融合, 范围不超过食管周径的75%; D级, 黏膜破损互相融合, 范围并累及食管周径的75%以上; (3)病程3-24 mo。排除标准: (1)患有上消化道出血、十二指肠溃疡、胃溃疡、Barrett食管、胃底和食管肿瘤、严重肝肾功能损害者及有胃部手术史的患者; (2)心电图或腹部彩色多普勒超声检查发现存在其他疾病的患者; (3)最近10 d内服用过质子泵抑制剂或抑酸、制酸、促进胃动力药以及对本试验药物或同类药物有过敏史的患者。将患者随机分为A、B、C 3组。具体资料(表1)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者均实行健康的饮食习惯和生活方式, 避免应用引起胃动力不足、引起胃排空延迟或降低食管下括约肌压的药物。A组: 埃索美拉唑(阿斯利康制药有限公司)20 mg, bid, 每日早晚餐前30 min温开水送服, 1 mo后改为20 mg, qd, 每日早餐前30 min温开水送服+铝碳酸镁片(北京拜耳医药保健有限公司)1000 mg, tid, 餐后2 h嚼服+黛力新(丹麦灵北制药有限公司)1粒/次, bid, 早、中餐后口服; B组: 埃索美拉唑20 mg, bid, 每日早晚餐前30 min温开水送服, 1 mo后改为20 mg, qd, 每日早餐前30 min温开水送服+黛力新1粒/次, bid, 早、中餐后口服; C组: 铝碳酸镁片1000 mg, tid, 餐后2 h嚼服+黛力新1粒/次, bid, 早、中餐后口服。疗程均为8 wk。

1.2.2 疗效观察: 观察两组患者症状缓解情况, 食管黏膜和胃黏膜的修复程度及其不良反应。

1.2.3 疗效评定标准: 治愈: 临床症状、体征消失, 内镜检查食管及胃部黏膜糜烂、溃疡消失; 好转: 临床症状、体征减轻, 内镜检查原食管炎分级下降; 无效: 临床症状、体征无变化, 内镜检查原食管炎分级无变化。复发: 治愈或好转后症状再次出现。治愈和好转之和为有效。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 采用 t 检验。 $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗效果 由表2可知, A组有效58例, 无效2例, 总有效率为96.67%, 有1例复发; B组有效49例, 无效11例, 总有效率为81.67%, 有8例复发; C

■创新盘点

本文的不同及创新之处在于针对食管的炎症程度与酸性和/或碱性反流物的接触时间相关, 在抑酸的同时加用铝碳酸镁抗胆汁酸, 再联合黛力新的抗焦虑作用, 多方面的达到快速控制胃食管反流病的症状。

表 1 全部患者临床资料 (n)

分组	A组	B组	C组
人数	60	60	60
性别			
男	33	37	42
女	27	23	18
食管炎分级			
A级	23	25	28
B级	15	13	11
C级	12	11	10
D级	10	11	11
症状			
反酸	55	53	51
烧心	54	55	53
暖气	50	52	51
腹胀	51	53	49
吞咽困难	24	30	27
胸痛	18	19	20

A组: 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治疗; B组: 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组: 采用铝碳酸镁+黛力新治疗。

组有效37例, 无效23例, 总有效率为61.67%, 有23例复发。A组的临床有效率和复发率明显高于B组和C组, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

2.2 不良反应 A组出现2例头晕, 3例腹泻, 2例腹胀、腹痛; B组出现1例腹泻, 1例腹胀、腹痛; C组出现1例头晕, 1例腹胀、腹痛。A、B、C 3组的不良反应发生率分别为11.67%、3.33%、3.33%, 经分析比较差异无统计学意义($P>0.05$), 且上述不良反应患者均能耐受, 后自行缓解, 未停药处理。

3 讨论

GERD的主要病因是由于中下段食管括约肌功能障碍, 防御机制削弱, 胃内容物反流及食管酸清除能力下降, 导致的一系列慢性症状和食管黏膜损害。主要的变化为食管下段括约肌压力降低, 一过性食管下括约肌松弛过度等^[3-6]。治疗目标是消除临床症状、使患者的生活质量提高。基本的治疗方法即为抗酸疗法。

Vaezi等^[7]研究发现, 食管同时暴露于胃酸及十二指肠内容物, 是GERD最常见的反流模式, 则需要应用清除胆汁的药物进行治疗。埃索美拉唑作为质子泵抑制剂的新型代表药物, 是奥美拉唑的S型异构体, 具有比奥美拉唑更低的首过消除效应及更高的生物利用度, 具有较强的抑酸作用, 降低反流物酸度及胃蛋白酶活性, 可以达到

表 2 3组患者疗效比较 ($n=60$)

分组	治愈	好转	无效	总有效率(%)	复发
A组	45	13	2	96.67	1
B组	36	13	11	81.67	8 ^a
C组	17	20	23	61.67	23 ^a

^a $P<0.05$ vs A组。A组: 采用埃索美拉唑+黛力新+铝碳酸镁治疗; B组: 采用埃索美拉唑+黛力新治疗; C组: 采用铝碳酸镁+黛力新治疗。

抑制反流症状以及治愈糜烂性食管炎的目的^[8]。

胆汁在GERD的发生、发展中的作用已逐步被认识。胆汁包括结合型胆汁酸、未结合性胆汁酸和磷脂, 浓度超过生理水平并延长作用时间时, 则能引起胃食管黏膜糜烂溃疡; 在酸性环境中, 结合型胆汁酸及溶血卵磷脂的损伤作用显著增强^[9]。铝碳酸镁片, 其表层具有网状晶格结构, 能吸附胃中的胆汁酸, 吸附率可以高达100%, 从而能避免游离出的胆汁酸损伤患者的胃黏膜。当患者的胃液pH<3时, 铝碳酸镁片表层的网状晶格结构即可溶出OH⁻以中和胃酸, 使得胃液中pH值升高; 当患者的胃液pH>5时, 铝碳酸镁片不会溶出OH⁻, 以将胃液的pH值维持在3-5的范围内^[10]。有研究发现食管的炎症程度与酸性和/或碱性反流物的接触时间相关, 当食管黏膜防御屏障受损时, 即使在正常反流情况下, 亦可发生食管炎^[11]。铝碳酸镁片在酸性环境下结合胆汁酸, 抑制卵磷脂的激活, 吸附于黏膜表面快速缓解症状。

近年来, 随着医学模式的转变, 有研究指出精神、心理状态对胃肠、食管发病起到一定的作用^[12]。尤其中青年是社会的中坚力量, 生活、工作压力尤其突出, 黛力新为新型的三环类抗焦虑抑郁合剂, 含小剂量三氟噻吨和四甲蒹丙胺, 提高突触间多巴胺、5-羟色胺等抑制神经递质, 从而改善焦虑情绪, 调节植物神经功能, 降低躯体症状感受阈值, 有助改善精神感知异常^[13-15]。三者联用, 增强了中和胃酸的作用, 快速清除胆盐作用, 从而使对抗胃反流作用增强, 而且改善食管下段括约肌功能障碍, 疗效强且缓解症状快速。

因此, 我们选择了质子泵抑制剂埃索美拉唑和胃黏膜保护剂铝碳酸镁片以及抗焦虑剂黛力新联合治疗GERD伴焦虑情绪的治疗方案。本实验证明, 经三者联用治疗后, 有效58例, 无效2例, 总有效率为96.67%, 仅1例复发, 较两者联用

■相关报道

埃索美拉唑、达喜、联合黛力新治疗中青年胃食管反流病控制症状疗效确切, 不良反应少, 且患者能耐受, 患者容易接受, 值得临床推广。

■同行评价

本文设计合理可靠, 统计学处理方法的使用恰当, 科学结论明确, 实验证据充足, 较好地反映了我国胃肠病学临床研究的先进水平。

有显著性差异($P<0.05$)。且不良反应少, 患者易耐受。可见, 铝碳酸镁片联合埃索美拉唑、黛力新治疗中青年胃食管反流病伴焦虑情绪的疗效明显, 不良反应小, 值得临床推广应用。

4 参考文献

- 1 Wu JC. Gastroesophageal reflux disease: an Asian perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1785-1793 [PMID: 19120871 DOI: 10.1111/j/1440-1746.2008.05684.x]
- 2 Nozu T, Komiyama H. Clinical characteristics of asymptomatic esophagitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 27-31 [PMID: 18297432 DOI: 10.1007/s00535-007-2120-2]
- 3 周吕, 柯美云. 胃肠动力学. 北京: 科学出版社, 1999: 634
- 4 Bollschweiler E, Knoppe K, Wolfgarten E, Hölscher AH. [Prevalence of reflux symptoms in the general population of Cologne]. *Z Gastroenterol* 2007; 45: 177-181 [PMID: 17304403 DOI: 10.1055/s-2006-927402]
- 5 Diaz-Rubio M, Moreno-Elola-Olaso C, Rey E, Locke GR, Rodriguez-Artalejo F. Symptoms of gastro-oesophageal reflux: prevalence, severity, duration and associated factors in a Spanish population. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 95-105 [PMID: 14687171 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01769.x]
- 6 Wong BC, Kinoshita Y. Systematic review on epidemiology of gastroesophageal reflux disease in Asia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 398-407 [PMID: 16616342 DOI: 10.1016/j.cgh.2005.10.011]
- 7 Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodeno-gastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996; 111: 1192-1199 [PMID: 8898632 DOI: 10.1053/gast.1996.v111.pm8898632]
- 8 王河, 汪安江, 朱萱. 胃食管反流病药物治疗进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1711-1719
- 9 刘芳, 姚萍. 原发性胆汁反流性胃炎与胃食管反流病的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20: 685-689
- 10 Wu JC, Cheung CM, Wong VW, Sung JJ. Distinct clinical characteristics between patients with non-erosive reflux disease and those with reflux esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 690-695 [PMID: 17481961 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.02.023]
- 11 祝喜萍, 朱春兰, 任旭, 李强, 姜子晔. 轻度反流性食管炎与非糜烂性反流病远端食管酸暴露和食管动力学变化. 世界华人消化杂志 2012; 20: 319-322
- 12 彭丽华, 梁浩. 抑郁症与消化道功能性疾病. 世界华人消化杂志 1999; 7: 601
- 13 章顺国, 牛小平, 刘少锋. 黛力新辅助治疗老年性非糜烂性反流病合并心理障碍的临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 1014-1015
- 14 刘艳, 黄素嫻, 黄妙娟, 陈晓红, 俞红华. 黛力新治疗胆汁反流性胃炎并焦虑抑郁的疗效观察. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 1107-1109
- 15 陈浩, 林李淼, 郑君杰. 黛力新治疗无明显精神症状的腹泻型感染后肠易激综合征30例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 733-736

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价

李 韦, 王 枫, 吕宗舜, 张爱青

李韦, 吕宗舜, 张爱青, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

王枫, 天津市人民医院消化科 天津市 300121

李韦, 主要从事肝脏疾病方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由李韦设计; 研究过程由李韦、王枫、吕宗舜及张爱青完成; 本论文写作由李韦与王枫完成。

通讯作者: 吕宗舜, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。zyyxhk@126.com

电话: 022-60362977

收稿日期: 2013-04-18 修回日期: 2013-05-25

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis

Wei Li, Feng Wang, Zong-Shun Lv, Ai-Qing Zhang

Wei Li, Zong-Shun Lv, Ai-Qing Zhang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Feng Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China

Correspondence to: Zong-Shun Lv, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. zyxhk@126.com

Received: 2013-04-18 Revised: 2013-05-25

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of ursodesoxycholic acid in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Randomized controlled clinical trials comparing the efficacy of ursodesoxycholic acid alone or in combination with other drugs versus other drugs or placebo alone in the treatment of NAFLD were retrieved by searching PubMed, Embase, OVID, Cochrane Library, CNKI, and Wanfang database. Review Manager 5.0 was used for meta-analysis.

RESULTS: Compared to the ursodesoxycholic acid monotherapy group, the drug combination group had significantly improved total effective rate (RR = 1.23, 95%CI: 1.07-1.41, $P = 0.004$) and decreased serum levels of TC (WMD = -1.69,

95%CI: -2.77--0.62, $P = 0.002$), TG (WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, $P = 0.0006$), ALT (WMD = -22.65, 95%CI: -35.27--10.04, $P = 0.0004$), and AST (WMD = -21.93, 95%CI: -23.74--20.12, $P < 0.00001$). The decrease in GGT was significant in both the ursodesoxycholic acid monotherapy group and drug combination group (WMD = -21.96, 95%CI: -35.73--8.18, $P = 0.002$; WMD = -28.80, 95%CI: -51.85--5.76, $P = 0.01$). There was no statistically significant difference in the incidence of adverse reactions (RR = 2.26, 95%CI: 0.88-5.83, $P = 0.09$).

CONCLUSION: Ursodesoxycholic acid is effective and safe in the management of NAFLD, and better efficacy can be achieved when it is combined with other positive agents.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ursodesoxycholic acid; Nonalcoholic fatty liver disease; Meta-analysis

Li W, Wang F, Lv ZS, Zhang AQ. Efficacy of ursodesoxycholic acid in treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2335-2343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2335.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2335>

摘要

目的: 对熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的有效性及其安全性进行评价。

方法: 在Pubmed、Embase、OVID、Cochrane Library和中国期刊全文数据库、万方数据库系统中检索已发表的关于单独应用熊去氧胆酸及联合其他药物治疗NAFLD的随机对照临床试验。根据纳入标准筛选后对纳入的研究利用Review Manager 5.0软件进行系统评价。

结果: 与熊去氧胆酸单用组相比, 联合用药组可明显提高治疗总有效率(RR = 1.23, 95%CI: 1.07-1.41, $P = 0.004$), 可明显降低血清总胆固醇(serum total cholesterol, TC)(WMD =

■背景资料

脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势。非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球关注的公共健康问题。

■同行评议者

郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科; 南极星, 教授, 延边大学药学院

■研究前沿

NAFLD的治疗主要为减轻体重、改变不良生活习惯以及药物治疗,但各种药物种类繁多,效果存在争议。近年来有很多关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的实验研究,但结果并不一致。

-1.69, 95%CI: -2.77--0.62, $P = 0.002$)、甘油三酯(triglyceride, TG)(WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, $P = 0.0006$)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)(WMD = -22.65, 95%CI: -35.27--10.04, $P = 0.0004$)和天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)(WMD = -21.93, 95%CI: -23.74--20.12, $P < 0.00001$)。单用组及联合用药组均可明显降低血清谷酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, GGT), WMD值分别为(WMD = -21.96, 95%CI: -35.73--8.18, $P = 0.002$); (WMD = -28.80, 95%CI: -51.85--5.76, $P = 0.01$)。两组不良反应发生率的差异无统计学意义($RR = 2.26$, 95%CI: 0.88-5.83, $P = 0.09$)。

结论: 熊去氧胆酸治疗NAFLD安全有效,但需联合其他药物才能更好地发挥作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 熊去氧胆酸; 非酒精性脂肪性肝病; 系统评价

核心提示: 虽然目前用于治疗非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的药物种类繁多,但效果存在争议。也有很多把熊去氧胆酸应用于NAFLD的研究报道,但是结果差异很大。本次系统评价结合多个小样本临床对照试验,结果表明熊去氧胆酸不良反应少,安全性好,可以作为治疗NAFLD的药物,但需要与其他药物合用。

李韦, 王枫, 吕宗舜, 张爱青. 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2335-2343
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2335.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2335>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种无过量饮酒史,以肝细胞内脂质过度沉积为特征的代谢性肝损伤^[1],胰岛素抵抗是发病的关键^[2]。目前NAFLD已成为全球范围内常见的肝疾病,并且有患病年龄低龄化的趋势^[3]。随着我国人民物质生活的不断改善,我国脂肪肝的发病率已占到平均人口的15%^[4]。脂肪性肝病并不是一种良性及静止的病,约1.5%-8.0%患者可进展为肝纤维化,若得不到控制,甚至会发展为肝癌^[5]。目前对NAFLD的治疗主要为减轻体质量和改变不良生活习惯,祛除病因,治疗原发病^[6]以及药物治疗。现对治

疗NAFLD的药物种类繁多,但没有特效的治疗药物,目前常用的药物包括针对胰岛素抵抗、高血脂、肝功能异常的对症治疗,如双胍类、他汀类、保肝类药物等^[7]。熊去氧胆酸是一种可用于多种肝病的保肝药物,目前有很多关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的研究,但结果不尽相同。为进一步明确熊去氧胆酸对NAFLD的治疗作用,本文通过全面检索相关文献,对符合标准的临床试验进行了系统评价,以了解熊去氧胆酸治疗NAFLD的疗效和安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 在Pubmed、Embase、OVID、Cochrane Library和CNKI以及万方数据库系统中检索已发表的随机对照临床试验研究。英文检索词为: fatty liver、non alcoholic fatty liver disease、steatosis、steatohepatitis、ursodeoxycholic acid、bile acids。中文检索词为: 脂肪肝、非酒精性脂肪性肝病、脂肪性肝炎、熊去氧胆酸、优思弗。检索年限均为建库至2013-03-20。并通过阅读综述查找相关文献。由两名评价员根据统一规范的筛选、评价方法来筛选评价文献。由两位研究者交叉核对纳入试验的结果,当有分歧而难以确定时通过讨论或由第3位研究者决定。

1.2 方法

1.2.1 研究类型: 所有关于熊去氧胆酸治疗NAFLD的临床随机对照试验文献均考虑入选本系统评价,语种、病例数不限。入选文献应提供治疗的总有效率,治疗后总胆固醇、甘油三酯、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、谷酰转肽酶的降低量等数据。

1.2.2 研究对象标准: 研究对象为依据中华医学会肝脏病学学会脂肪肝和酒精病学组制订的“非酒精性脂肪肝诊疗指南”^[8]。

1.2.3 干预措施的类型: 干预措施为任何剂量的熊去氧胆酸,单用或联合其他药物,对照措施为安慰剂或其他药物,剂量和给药途径不限。

1.2.4 排除标准: 熊去氧胆酸用于肝脏疾病,但主要目的不是治疗NAFLD的方案;熊去氧胆酸联合其他药物,但对照组没有用此药物作对照的用药方案。除外一项研究的重复发表,对一项研究不同阶段发表的文章选取最近发表的研究结果进行分析。

1.2.5 质量评价: 由研究者进行文献质量评价,应用Cochrane协作网推荐的方法进行评价,主要内

表 1 纳入研究的特征

研究	试验组	对照组	干预措施	对照措施	疗程	结局指标
Ersöz等 ^[9]	29	27	熊去氧胆酸 10 mg/(kg·d)	VitE 600 IU/d+ VitC 500 mg/d	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷 酰转氨酶, 碱性磷酸酶
Lindor等 ^[10]	80	86	熊去氧胆酸 13–15 mg/(kg·d)	安慰剂 13–15 mg/(kg·d)	2年	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 碱 性磷酸酶, 谷酰转氨酶, 总胆红素, 直 接胆红素, 体指数
Méndez-Sánchez等 ^[11]	14	13	熊去氧胆酸 1200 mg/d	安慰剂 1200 mg/d	6 wk	体指数, 丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转 氨酶, 甘油三酯
Santos等 ^[12]	15	15	熊去氧胆酸 10 mg/(kg·d)	安慰剂 10 mg/(kg·d)	3 mo	丙氨酸转氨酶, 体指数, 肝脏脂质含 量
Ratzliff等 ^[13]	55	61	熊去氧胆酸 28–35 mg/(kg·d)	安慰剂 28–35 mg/(kg·d)	12 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷 酰转氨酶
杨亦德等 ^[14]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg tid	易善复 456 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷 酰转氨酶, B超, 甘油三酯, 总胆固醇
杨勇 ^[1] ^[15]	48	42	熊去氧胆酸 100 mg tid	控制饮食, 适度运 动	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转氨酶
杨勇 ^[2] ^[15]	48	48	熊去氧胆酸 100 mg tid	二甲双胍 250 mg tid	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转氨酶
杨勇 ^[3] ^[15]	48	48	熊去氧胆酸 100 mg tid+二甲 双胍 250 mg tid	二甲双胍 250 mg tid	6 mo	甘油三酯, 总胆固醇, 丙氨酸转氨酶, 谷酰转氨酶
李璞 ^[16]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg bid+双环 醇 25 mg tid	双环醇 25 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 甘 油三酯, 总胆固醇
何劲松等 ^[17]	43	42	熊去氧胆酸 250 mg tid+易善 复 456 mg tid	易善复 456 mg tid	6 mo	丙氨酸转氨酶, 谷酰转氨酶, 甘油三 酯, 高密度脂蛋白
王英 ^[18]	28	28	熊去氧胆酸 0.5 g tid+美能 250 mg bid+益肝 灵 4# tid	美能 tid 益肝灵 4# tid	2 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 甘 油三酯, 总胆固醇, 高密度脂蛋白
李日德等 ^[19]	30	30	熊去氧胆酸 250 mg bid+益肝 灵 4# tid	益肝灵 4# tid	3 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷 酰转氨酶, 甘油三酯, 总胆固醇
刘纯钢 ^[20]	38	40	熊去氧胆酸+辛伐 他汀(剂量不详)	辛伐他汀(剂量不 详)	2 mo	丙氨酸转氨酶, 天冬氨酸转氨酶, 谷 酰转氨酶, 甘油三酯, 总胆固醇

■创新盘点

近年来有很多研究熊去氧胆酸治疗NAFLD效果的实验, 但结果并不一致. 系统评价可以通过整合小样本研究而得出可靠的结论. 本次评价研究熊去氧胆酸对NAFLD的治疗的效果和安全性, 为合理选用治疗NAFLD的药物提供依据.

容为: (1)随机分配方法是否合理充分; (2)分配隐藏是否合理充分; (3)盲法是否采用; (4)是否合理描述了失访和退出情况, 是否进行了意向性分析. 同时应用Jadad评分对入选文献进行评分, 1-2分为低质量文章, 3-5分为高质量文章.

统计学处理 选取各研究的结果进行意向性治疗分析, 因为意向性治疗分析可以最大程度地保持各研究的随机对照性. 利用Review Manager 5.0软件对结果进行分析. 应用统计量 I^2 对各研究间的异质性进行检验, 如果 $I^2 < 40\%$, 则应用固定效应模型进行分析; 如果 $I^2 > 40\%$, 则采用随机效应模型进行分析. 对于连续型变量采用权重均数差(WMD)及其95%可信区间(CI)表示; 对

于分类变量采用比值比(RR)及其95%CI表示; 检验水准 $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 纳入研究的基本特点 初检251篇文献, 通过阅读文题、摘要和全文, 纳入12篇随机对照试验文献^[9-20]. 其中杨勇^[15]的研究试验组为4组, 相互独立且样本量足够, 根据入选要求, 把此研究分为3个独立的临床试验. 最终共纳入14个临床试验, 英文文章5篇, 中文文章7篇. 共包含1153例NAFLD患者. 其中试验组582例, 对照组571例. 纳入研究的特征如表1, 质量评价结果如表2.

2.2 Meta分析结果 纳入的14项研究中, 8项采用

■应用要点

本次系统评价表明熊去氧胆酸相比其他药物对治疗NAFLD并无明显优势,但当其与其他药物合用时可明显改善肝组织炎症,且熊去氧胆酸不良反应少,安全性好,可以作为治疗NAFLD的药物,但需与其他药物合用方能有良好的疗效。

表 2 纳入研究的质量评价

研究	随机方法	方案隐藏	盲法	失访报道	Jadad评分
Ersöz等 ^[9]	不清楚	不清楚	非盲法	有	3
Lindor等 ^[10]	计算机随机	恰当	双盲	有	7
Méndez-Sánchez等 ^[11]	随机数字	不清楚	双盲	有	6
Santos等 ^[12]	不清楚	不清楚	双盲	有	5
Ratzliff等 ^[13]	随机数字	不清楚	双盲	有	6
杨亦德等 ^[14]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
杨勇 ^[15]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
李璞 ^[16]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
何劲松等 ^[17]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
王英 ^[18]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
李日德等 ^[19]	不清楚	不清楚	不清楚	不清楚	2
刘纯钢 ^[20]	计算机随机	不清楚	不清楚	不清楚	3

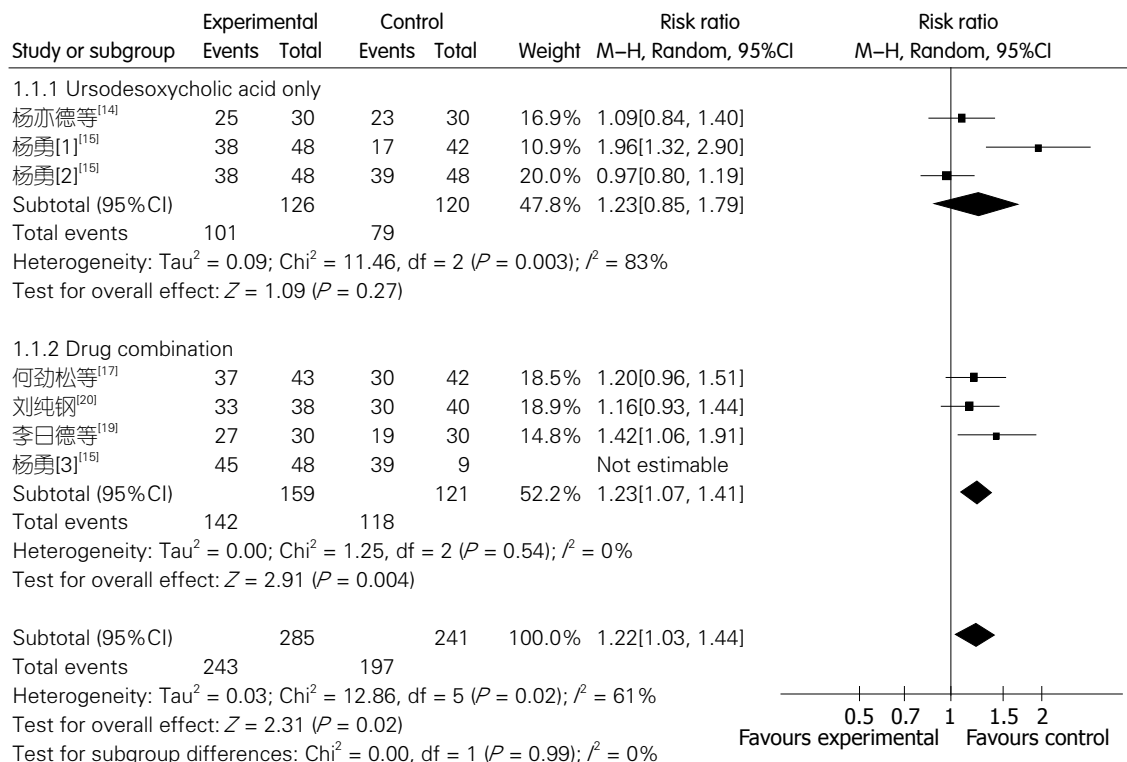


图 1 总有效率的Meta分析。

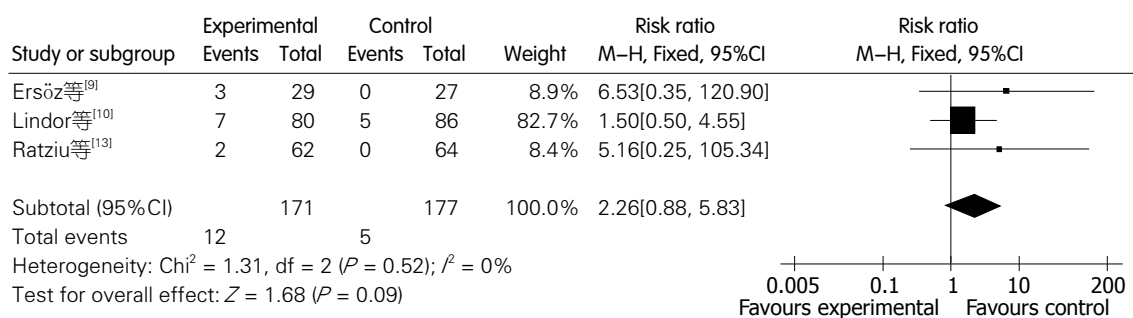
熊去氧胆酸单用方案, 6项采用熊去氧胆酸与其他药物联合用药方案; 在进行合并分析时, 用药联合与否, 会引起异质性。当异质性较大时, 即按单用和联合给药进行亚组分析, 以减少异质性。

2.2.1 总有效率: 7项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 61\%$), 按给药方案不同, 采用随机效应模型进行分析。结果显示, 熊去氧胆酸单用组差异无统计学意义($RR = 1.23$, $95\%CI$: $0.85-1.79$, $P = 0.27$), 联合用药组差异具有统计学

意义($RR = 1.23$, $95\%CI$: $1.07-1.41$, $P = 0.004$)。合并分析结果显示, 差异有统计学意义($RR = 1.22$, $95\%CI$: $1.03-1.44$, $P = 0.02$)(图1)。

2.2.2 不良反应发生率: 3项研究统计了因不良反应退出试验的病例, 同质性检验($I^2 = 0\%$), 采用固定效应模型分析。结果显示, 两组的差异无统计学意义($RR = 2.26$, $95\%CI$: $0.88-5.83$, $P = 0.09$)(图2)。

2.2.3 ALT降低量: 14项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 97\%$), 采用随机效应模



■同行评价

本文研究方法得当, 研究结果较可信, 具有一定的创新性, 能较好的反映熊去氧胆酸治疗NAFLD的疗效和安全性。

图2 不良反应发生率的Meta分析。

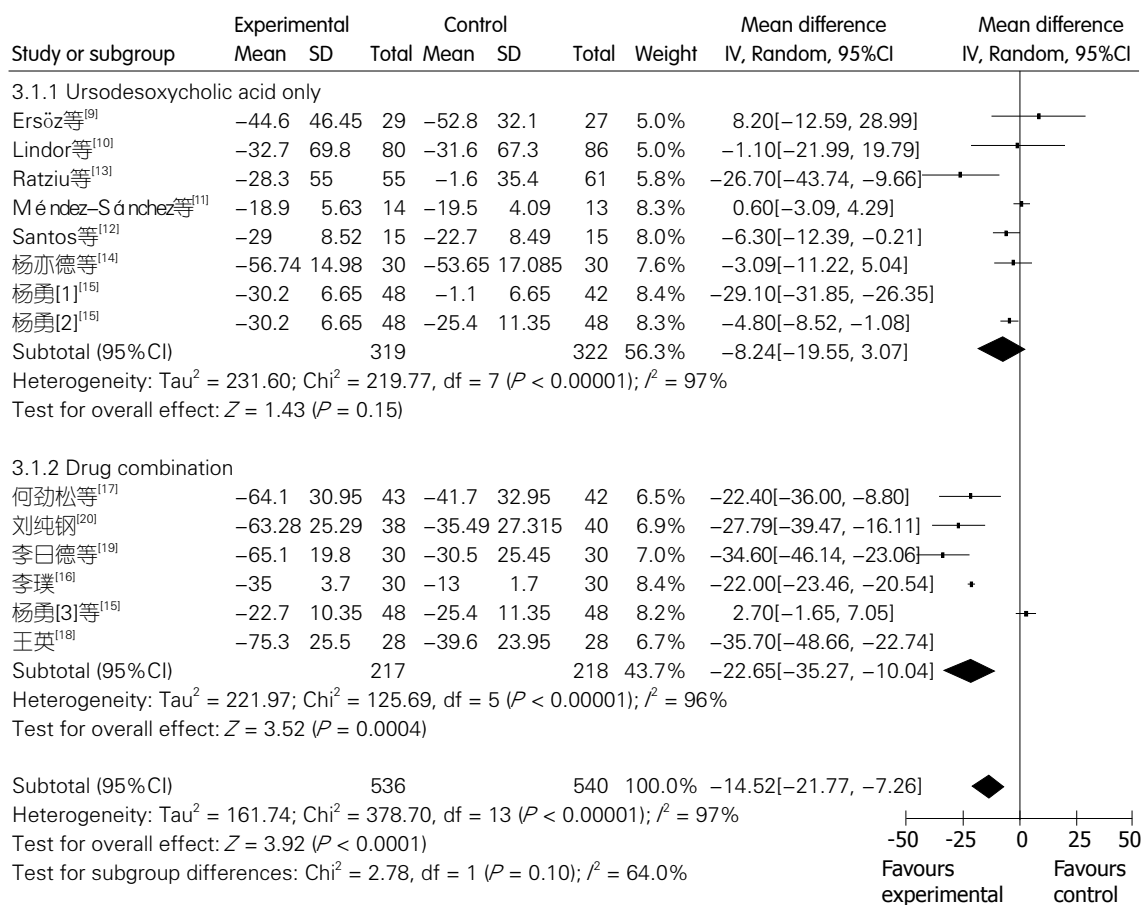


图3 丙氨酸转氨酶降低量的Meta分析。

型进行分析。结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义($WMD = -8.24$, $95\%CI: -19.55-3.07$, $P = 0.15$), 联合用药组差异具有统计学意义($WMD = -22.65$, $95\%CI: -35.27-10.04$, $P = 0.0004$)。合并分析结果显示, 差异具有统计学意义($WMD = -14.52$, $95\%CI: -21.77-7.26$, $P < 0.0001$)(图3)。

2.2.4 AST降低量: 9项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 96\%$), 采用随机效应模型进行分析。结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义($WMD = -11.04$, $95\%CI:$

$-27.66-5.57$, $P = 0.19$), 联合用药组差异具有统计学意义($WMD = -21.93$, $95\%CI: -23.74-20.12$, $P < 0.00001$)。合并分析结果显示, 差异具有统计学意义($WMD = -16.26$, $95\%CI: -26.42-6.10$, $P = 0.002$)(图4)。

2.2.5 GGT降低量: 10项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 97\%$), 采用随机效应模型进行分析。结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异有统计学意义($WMD = -21.96$, $95\%CI: -35.73-8.18$, $P = 0.002$), 联合用药组差异具有统计学意义($WMD = -28.80$, $95\%CI: -51.85-5.76$,

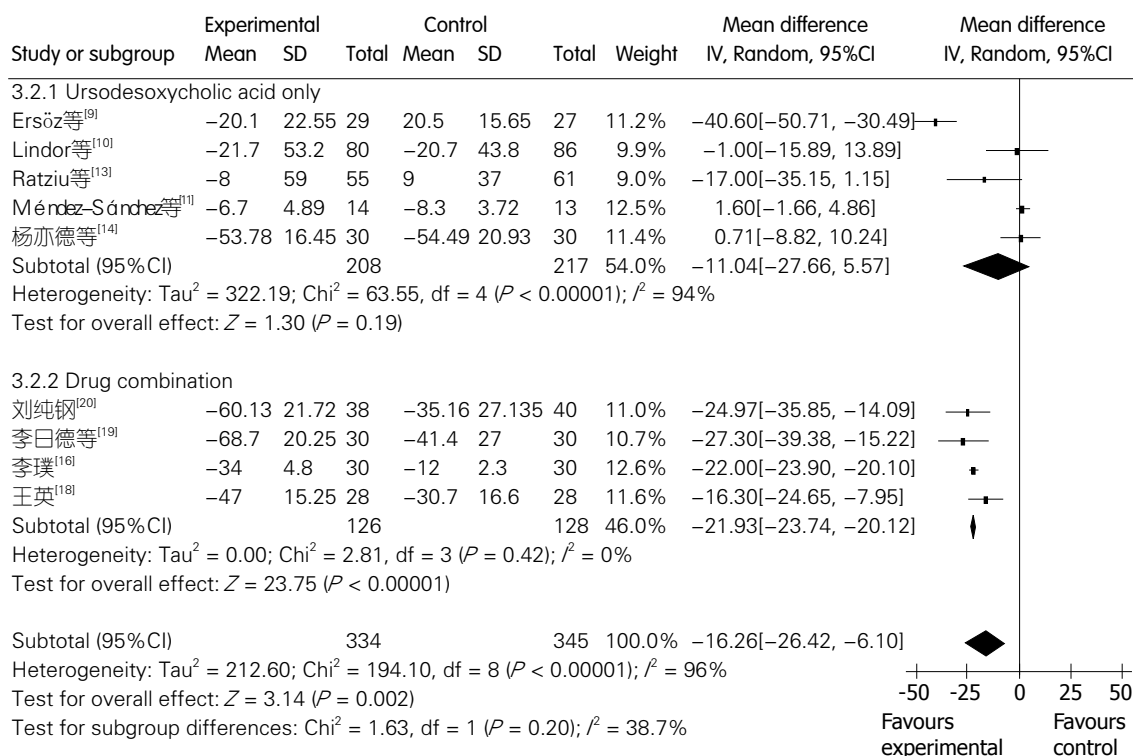


图 4 谷草转氨酶降低量的Meta分析.

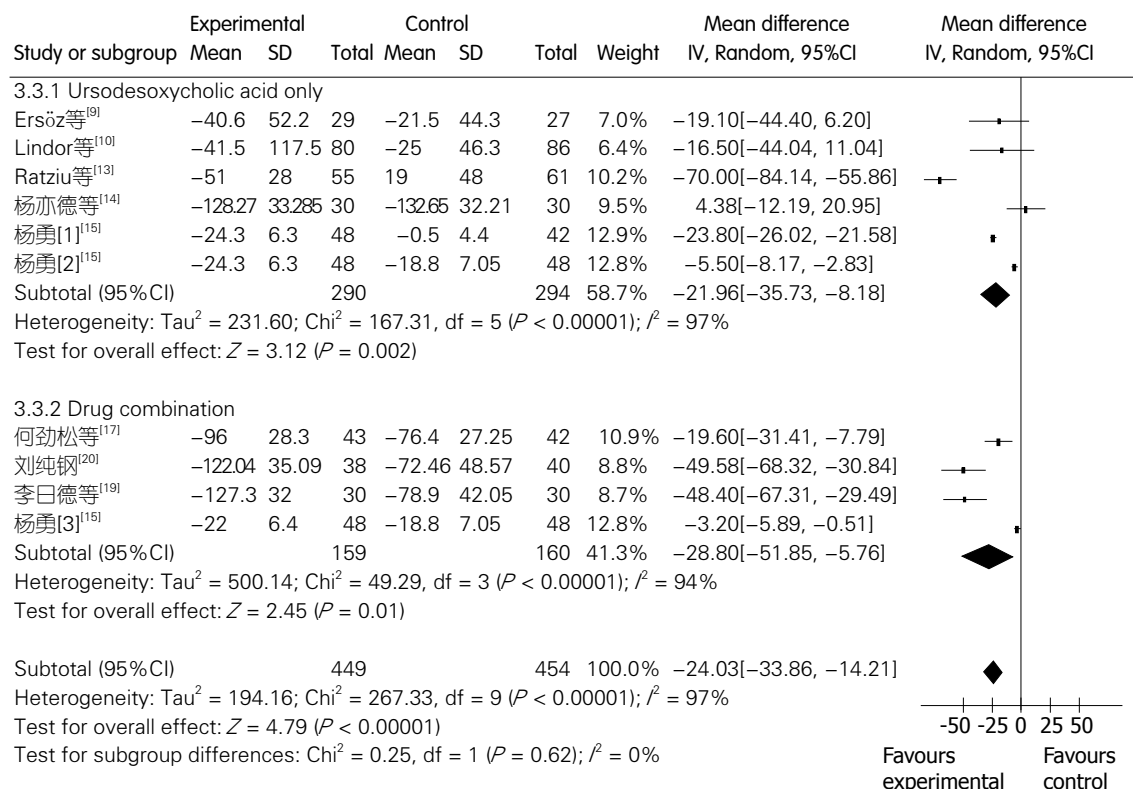


图 5 谷酰转氨酶降低量的Meta分析.

$P = 0.01$). 合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -24.03, 95%CI: -33.86--14.21, $P < 0.00001$)(图5).

2.2.6 TC降低量: 8项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 98\%$), 采用随机效应模型进行分析. 结果显示, 熊去胆酸单用组结果差异无

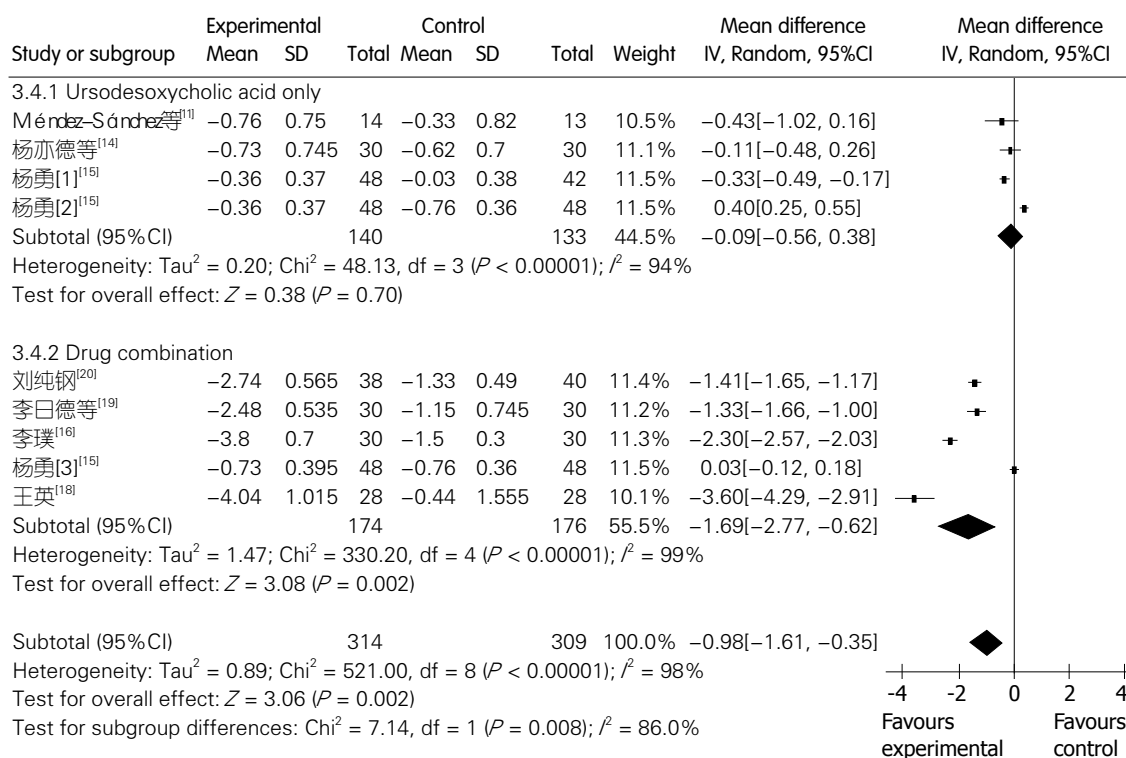


图6 总胆固醇降低量的Meta分析。

统计学意义(WMD = -0.09, 95%CI: -0.56-0.38, $P = 0.70$), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -1.69, 95%CI: -2.77--0.62, $P = 0.002$)。合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -0.98, 95%CI: -1.61--0.35, $P = 0.002$)(图6)。

2.2.7 TG降低量: 9项研究进行了统计, 各研究间存在异质性($I^2 = 97\%$), 采用随机效应模型进行分析。结果显示, 熊去氧胆酸单用组结果差异无统计学意义(WMD = -0.21, 95%CI: -0.72-0.29, $P = 0.41$), 联合用药组差异具有统计学意义(WMD = -1.01, 95%CI: -1.59--0.43, $P = 0.0006$)。合并分析结果显示, 差异具有统计学意义(WMD = -0.72, 95%CI: -1.08--0.37, $P < 0.0001$)(图7)。

3 讨论

本次系统评价表明, 单独应用熊去氧胆酸时能降低NAFLD患者的ALT、AST、TC和TG值, 但与其他药物或安慰剂相比时差异无统计学意义。当熊去氧胆酸联合其他药物时, 各项指标的下降程度明显优于对照组, 差异有统计学意义。熊去氧胆酸无论是单药方案或是联合用药治疗NAFLD, GGT的降低量与对照组相比, 差异均具有统计学意义。说明熊去氧胆酸对NAFLD有一定的治疗作用, 但需联合其他药物才能更好地发挥效果。纳入的各研究中出现的不良反

应主要包括恶心、腹泻, 有3个研究报道了此不良反应并退出试验的病例, 熊去氧胆酸在治疗NAFLD的过程中并未发生严重不良反应及危及患者生命的不良事件, 这表明熊去氧胆酸应用于治疗NAFLD是安全的。

熊去氧胆酸是正常胆汁酸的组成成分, 具有改善胆汁流、增加胆汁中的脂质分泌、膜稳定、抗凋亡、保护细胞和免疫调节等多种功能^[21], 还能够抑制肝脏胆固醇的合成, 有利于结石中胆固醇逐渐溶解, 促进胆固醇从胆囊向肠道排泄, 减少肝脏脂肪, 并可降低肝脏和血中三酰甘油的浓度^[22]。其正是通过这些作用可以用来治疗NAFLD。结合本次系统评价的结果我们可以看出, 熊去氧胆酸可以用于治疗NAFLD, 但与其他药物相比并不具有优势。目前NAFLD的发病机制认为胰岛素抵抗和脂代谢紊乱是NAFLD发生过程中的第一次打击。在此基础上发生的氧化应激等成为第二次打击。二次打击启动了肝组织炎症反应, 造成脂肪性肝炎^[23]。二甲双胍可以改善胰岛素抵抗; 辛伐他汀可通过降血脂来治疗脂肪肝; 易善复能影响体内的脂类代谢过程, 抑制脂肪在体内发生积聚; 双环醇可保护肝细胞, 加速脂肪转运; 美能具有抗炎、调节免疫作用, 可明显降低转氨酶; 水飞蓟素能清除活性氧, 减弱脂质过氧化反应发生的程度。这些药物通

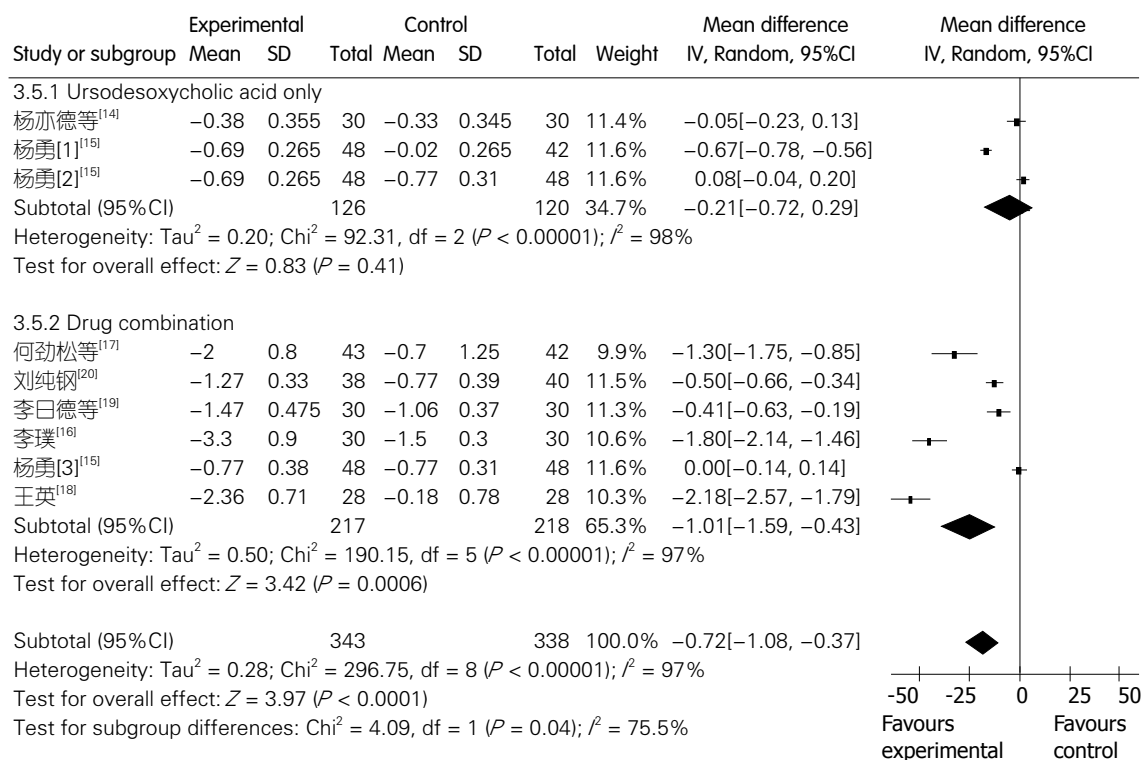


图7 甘油三酯降低量的Meta分析.

过影响二次打击的不同阶段起到治疗NAFLD的作用. 通过本次评价结果可以看出, 当我们把上述药物与熊去氧胆酸联用时, 各项指标好转程度均优于单独应用这些药物. 说明当两种药物联用时, 通过上述不同的机制治疗NAFLD能够得到事半功倍的效果.

熊去氧胆酸作为一种细胞保护剂, 具有其安全性好. 药物相互作用少, 细胞和亚细胞水平的潜在治疗效应等优势. 通过本次系统评价提示, 熊去氧胆酸具有改善肝功能、保护肝脏的作用, 可用于治疗NAFLD, 但应与其他药物联用, 方能达到理想的疗效.

4 参考文献

- Agrawal S, Bonkovsky HL. Management of non-alcoholic steatohepatitis: an analytic review. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 253-261 [PMID: 12192203 DOI: 10.1016/j.Amc.2009.07.007]
- 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 200-229
- 范建高. 非酒精性脂肪肝的临床流行病学研究. *中华消化杂志* 2002; 22: 106-107
- Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1002/jnr.21425]
- Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc* 2010; 69: 211-220 [PMID: 20158939 DOI: 10.1017/S0029665110000030]
- Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, Ash S, Purdie DM, Clouston AD, Powell EE. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut* 2004; 53: 413-419 [PMID: 14960526 DOI: 10.1136/gut.2003.027581]
- Zeng MD, Fan JG, Lu LG, Li YM, Chen CW, Wang BY, Mao YM. Guidelines for the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver diseases. *J Dig Dis* 2008; 9: 108-112 [PMID: 18419645 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2008.00331.x]
- 中华肝脏病学学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊断标准. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 72
- Ersöz G, Günşar F, Karasu Z, Akay S, Batur Y, Akarca US. Management of fatty liver disease with vitamin E and C compared to ursodeoxycholic acid treatment. *Turk J Gastroenterol* 2005; 16: 124-128 [PMID: 16245220]
- Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, Lymp JF, Burgart L, Colin P. Ursodeoxycholic acid for treatment of non-alcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology* 2004; 39: 770-778 [PMID: 14999696 DOI: 10.1002/hep.20092]
- Méndez-Sánchez N, González V, Chávez-Tapia N, Ramos MH, Uribe M. Weight reduction and ursodeoxycholic acid in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Hepatol* 2004; 3: 108-112 [PMID: 15505596]
- Santos VN, Lanzoni VP, Szejnfeld J, Shigueoka D, Parise ER. A randomized double-blind study of the short-time treatment of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease with ursodeoxycholic acid. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36: 723-729 [PMID: 12792701 DOI: 10.1590/S0100-879X2003000600007]

- 13 Ratziu V, de Ledinghen V, Oberti F, Mathurin P, Wartelle-Bladou C, Renou C, Sogni P, Maynard M, Larrey D, Serfaty L, Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Rivière M, Spénard J. A randomized controlled trial of high-dose ursodesoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2011; 54: 1011-1019 [PMID: 21145828 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.08.030]
- 14 杨亦德, 侯伟. 熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪肝30例临床观察. *中国现代医生* 2011; 49: 1673-9701
- 15 杨勇. 熊去氧胆酸及二甲双胍治疗非酒精性脂肪肝病的临床研究. *中国血液流变学杂志* 2012; 22: 61-63,78
- 16 李璞. 双环醇联合熊去氧胆酸治疗非酒精性脂肪性肝病临床疗效分析. *山西医药杂志* 2012; 41: 1153-1154
- 17 何劲松, 刘国霞. 熊去氧胆酸联合多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪肝的疗效观察. *中国现代药物应用* 2010; 4: 105-106
- 18 王英. 优思弗联合美能治疗脂肪肝并高脂血症56例临床观察. *浙江临床医学* 2008; 10: 1060
- 19 李日德, 柯俊. 熊去氧胆酸联合水飞蓟素治疗脂肪肝的疗效观察. *临床合理用药* 2012; 5: 1674-3296
- 20 刘纯钢. 熊去氧胆酸联合辛伐他汀治疗脂肪肝合并高脂血症的疗效观察. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 1006-5709
- 21 Trauner M, Graziadei IW. Review article: mechanisms of action and therapeutic applications of ursodeoxycholic acid in chronic liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 979-996 [PMID: 10468672 DOI: 10.1046/j.1365-2036.1999.00596.x]
- 22 Rodrigues CM, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998; 101: 2790-2799 [PMID: 9637713 DOI: 10.1172/JCI1325]
- 23 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例

余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周芳, 吕其军

■背景资料

终末期肝病是肝病持续进展, 发展而至的严重病理阶段。本病的发生多从肝硬化发展而来, 在肝脏长期损伤后引发的纤维化基础上发病。研究表明, 由于肝硬化患者往往伴随着免疫力低下, 临床上极易并发感染, 加重患者病情。因此, 如何有效控制肝硬化患者感染成为预防不良事件发生的重点。

余永勤, 刘汉勤, 陈谭昇, 周芳, 吕其军, 东营市胜利油田中心医院 山东省东营市 257034

余永勤, 副主任医师, 主要从事肝病及感染性疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由余永勤设计; 研究过程由余永勤、刘汉勤及陈谭昇共同实施完成; 数据分析由余永勤、周芳及吕其军完成; 本论文写作由余永勤、刘汉勤、陈谭昇、周芳及吕其军共同完成。

通讯作者: 余永勤, 副主任医师, 257034, 山东省东营市东营区济南路38号, 胜利油田中心医院。yyq2010829@163.com

收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis

Yong-Qin Yu, Han-Qin Liu, Tan-Sheng Chen, Fang Zhou, Qi-Jun Lv

Yong-Qin Yu, Han-Qin Liu, Tan-Sheng Chen, Fang Zhou, Qi-Jun Lv, Shengli Oil Field Central Hospital, Dong Ying 257034, Shandong Province, China

Correspondence to: Yong-Qin Yu, Associate Chief Physician, Shengli Oil Field Central Hospital, Dong Ying 257034, Shandong Province, China. yyq2010829@163.com

Received: 2013-05-13 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To observe the clinical efficacy of immunoglobulin (IG) in the treatment of infection in patients with cirrhosis.

METHODS: One hundred and five cirrhotic patients with an infection were randomized into either a control group or an observation group. The control group received routine antibiotic treatment, while the observation group was given IG on the basis of routine antibiotic treatment and underwent efficacy evaluation using Child-Pugh scores. Serum total bilirubin (TB), albumin, alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC) and blood coagulation parameters were monitored. The rate of early infection control and incidence of complications were compared between the two groups.

RESULTS: For patients with a Child-Pugh score < 10, the rate of early infection control was not statistically significant between the two groups

($P > 0.05$). For patients with a Child-Pugh score between 10 and 15, the rate of infection control was significantly higher in the observation group than in the control group (84.00% vs 46.15%, $P < 0.05$). Severe infection occurred during therapy in two cases in the observation group and in eight cases in the control group, and there was no significant difference in the number of cases of severe infection occurring during therapy between the two groups ($P > 0.05$). In addition, 11 cases in the observation group and 13 cases in the control group were actively discharged from the hospital or died, and there was no statistically significant difference in the number of patients who were actively discharged from the hospital or died between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: IG can effectively improve the rate of infection control and reduce the incidence of complications during hospitalization and mortality in cirrhotic patients with a Child-Pugh score between 10 and 15.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Human immunoglobulin; Cirrhosis; Infection

Yu YQ, Liu HQ, Chen TS, Zhou F, Lv QJ. Human immunoglobulin for treatment of infection in patients with cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2344-2348
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2344.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2344>

摘要

目的: 观察人体免疫球蛋白(immunoglobulin, IG)在肝硬化合并感染患者临床治疗中的应用疗效。

方法: 对东营市胜利油田中心医院收治肝硬化合并感染患者105例进行随机分组, 对照组给予常规抗生素抗感染, 观察组在对照组基础上加用IG, 并采用Child-Pugh评分进行疗效观察。对各组患者血清总胆红素、血清白蛋白、谷丙转氨酶、总胆固醇以及凝血功能等指标进行检查。同时, 观察治疗后两组患者的早期

■同行评议者

胡国信, 主任医师, 副教授, 南昌大学第一附属医院传染科; 朱传武, 主任医师, 苏州市第五人民医院

感染控制率以及治疗浅见的并发症情况。

结果: 患者Child-Pugh <10 分时, 两组患者感染控制率差异无统计学意义($P>0.05$)。Child-Pugh评分10-15分时, 观察组感染控制率为84.00%, 高于对照组的46.15%($P<0.05$)。此外, 观察组在治疗期间发生2例二重感染, 对照组则为8例。两组差异无统计学意义($P>0.05$)。此外, 观察组与对照组分别有11例、13例患者主动出院或死亡, 两组差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: Child-Pugh评分10-15分的肝硬化患者应用IG, 能够有效提高感染控制率, 减少并发症。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 人免疫球蛋白; 肝硬化; 感染

核心提示: 对Child-Pugh 10-15分的患者早期临床应用人免疫球蛋白(immunoglobulin, IG), 不但可以起到良好的抗感染效果, 还能够预防二重感染的发生。其作用机制可能与IG可以针对性地调控对侵入病原体的吞噬效果。因此, 对于肝细胞损伤严重, 吞噬细胞功能下降的终末期肝病患者而言, 早期补充IG显得尤为重要。

余永勤, 刘汉勤, 陈潭昇, 周芳, 吕其军. 人免疫球蛋白治疗肝硬化合并感染105例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2344-2348
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2344>

0 引言

终末期肝病是肝病持续进展, 发展而至的严重病理阶段^[1]。本病的发生多从肝硬化发展而来, 在肝脏长期损伤后引发的纤维化基础上发病。研究表明^[2,3], 由于肝硬化患者往往伴随着免疫力低下, 临床上极易并发感染, 加重患者病情。因此, 如何有效控制肝硬化患者感染成为预防不良事件发生的重点。国外有学者研究发现^[4], 人免疫球蛋白(immunoglobulin, IG)有较好的辅助控制感染作用, 能够有效降低患者的病死率。本研究对东营市胜利油田中心医院肝硬化合并感染患者进行静脉注射IG治疗, 取得了良好的临床疗效, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入研究病例105例, 均为2008-01/2012-12东营市胜利油田中心医院收治

的住院患者, 肝硬化临床诊断标准参考1993年“中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会”在洛阳会议上制定的诊断标准^[5]。根据数字随机分组原则进行临床治疗分组, 其中观察组53例, 男33例, 女20例, 年龄32-71岁, 平均年龄51.2岁 \pm 15.2岁; 对照组52例, 男34例, 女18例, 年龄31-73岁, 平均年龄51.3岁 \pm 15.1岁。对两组患者性别、年龄等资料进行统计学分析, 差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 诊断标准^[6,7]: (1)肝硬化Child-Pugh评分标准: Child-Pugh评分标准共分5个部分, 分别是: 血清总胆红素(total bilirubin, TB)水平、有无腹水、血清白蛋白(albumin, ALB)水平、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)以及有无肝性脑病。每项根据严重程度分别记录1-3分, 轻度1分、中度2分、重度3分。5项最低得分5分, 最高得分15分。本研究将10分做为分组界限, 分为Child-Pugh <10 分与10-15分两组。根据标准, 观察组Child-Pugh <10 分者28例, 10-15分者25例; 对照组Child-Pugh <10 分者26例, 10-15分者26例; (2)腹腔感染诊断依据: 发热, 并伴有腹痛、腹胀、腹水等, 血常规可见中性粒细胞增高。腹水检测亦可中性粒细胞增高($>250/\text{mm}^3$), 腹水培养可见细菌(+).

1.2.2 治疗: 两组患者入院后均给予综合治疗方案, 尽早控制感染、减少肝细胞坏死, 预防各种疾病并发症的出现。(1)对照组: 入院后在综合治疗基础上每日先给予头孢曲松钠(罗氏芬, 上海罗氏制药有限公司, 批号SH1634)1 g加入100 mL生理盐水中, 静脉滴注, 2-3次/d。同时尽快进行血培养, 并根据致病菌的药敏实验结果及时调整抗生素;(2)观察组: 在综合治疗及对照组基础上给予IG(同路生物制药股份有限公司, 批号: 20120202)静脉注射, 剂量如下: 前3 d 300 mg/(kg·d), 第4天给予10 g IG静注, 1次/wk, 1 wk后改为10 g IG/2 d, 后根据患者具体情况给予1-2次/wk,

1.2.3 观察指标: 入院第2天清晨空腹抽取患者肘静脉血5 mL, 经离心后抽取上层血清送检验科检测血清TB、ALB、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆固醇(total cholesterol, TC)以及凝血功能等指标。入院后每2-4 d进行1次复检。

1.2.4 疗效评定: (1)感染好转: 无发热, 相关症

■ 研发前沿

在临床治疗中, 如何有效、快速控制终末期肝病患者感染, 就成为防止并发症发生, 降低患者病死率的重要措施。

■相关报道

张健等研究表明, 感染是肝硬化患者临床上最为多见的一类并发症, 特别是腹腔、腹膜感染更占据了极大的比例。宋秦伟等研究表明, 肝硬化患者发生腹膜炎的风险高达67.6%。黄云等研究表明, 感染是导致肝硬化患者患者死亡的重要促进性因素。

表 1 两组患者治疗1 wk后血清总胆红素、凝血酶原时间指标变化分析 (mean ± SD)

分组	Child-Pugh < 10			Child-Pugh 10-15		
	<i>n</i>	血清总胆红素(μmol/L)	凝血酶原时间(s)	<i>n</i>	血清总胆红素(μmol/L)	凝血酶原时间(s)
治疗前						
观察组	28	52.81 ± 38.13	16.22 ± 4.78	25	158.29 ± 52.64	21.32 ± 6.55
对照组	26	49.93 ± 40.52	18.13 ± 6.12	26	157.98 ± 52.63	23.81 ± 9.77
<i>t</i> 值	—	0.17	0.19	—	0.06	0.17
<i>P</i> 值	—	>0.05	>0.05	—	>0.05	>0.05
治疗1 wk后						
观察组	28	23.39 ± 16.43	2.32 ± 1.63	25	30.33 ± 28.42	2.41 ± 1.87
对照组	26	28.89 ± 17.62	2.10 ± 1.89	26	52.25 ± 29.54	4.62 ± 3.23
<i>t</i> 值	—	1.27	0.42	—	2.71	0.67
<i>P</i> 值	—	<0.05	<0.05	—	<0.05	<0.05

表 2 两组患者治疗期间并发症分析 (*n*)

组别	<i>n</i>	上消化道出血	肝性脑病	肝肾综合征	电解质紊乱
观察组	53	4	6	4	29
对照组	52	8	15	12	35
χ^2		1.59	5.04	4.90	1.75
<i>P</i> 值		>0.05	<0.05	<0.05	>0.05

表 3 两组患者早期感染控制情况分析 (*n*)

分组	Child-Pugh < 10			Child-Pugh 10-15		
	<i>n</i>	有效(<i>n</i>)	有效率(%)	<i>n</i>	有效(<i>n</i>)	有效率(%)
观察组	28	26	92.86	25	21	84.00
对照组	26	25	96.15	26	12	46.15
χ^2		0.28			7.99	
<i>P</i> 值		>0.05			<0.05	

状、体征消失或较前明显好转, 血常规示中性粒细胞计数恢复正常范围; (2)无效: 仍有发热, 相关症状、体征消失或较前无好转或进行性加重, 血常规示中性粒细胞计数持续高于正常值。

统计学处理 应用SPSS14.0软件, 计量资料以mean ± SD表示, 均数比较采用*t*检验、方差因素分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗1 wk后TB、PT指标变化分析 治疗前, 两组患者Child-Pugh<10与10-15分者在TB、PT水平方面无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后, Child-Pugh<10与10-15分组, TB、PT水平均明显低于对照组($P < 0.05$, 表1)。

2.2 两组患者治疗期间并发症 治疗后, 患者并发肝性脑病和肝肾综合征方面, 观察组明显低于对照组, 两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2)。

2.3 两组患者早期感染控制情况 Child-Pugh<10分患者中, 观察组与对照组患者早期感染控制率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。Child-Pugh 10-15分患者中, 观察组早期感染控制率为84.00%, 高于对照组的46.15%。两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表3)。

2.4 两组患者住院期间二重感染 治疗期间, 两组患者均发生二重感染病例, 其中观察组2例、对照组8例, 二重感染发生率为3.77%、15.38%。两组患者进行统计学分析, 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.87$, $P > 0.05$)。

2.5 两组患者临床转归 两组患者均有临床未愈自动出院以及病死病例, 其中观察组共有11例, 对照组共有13例, 两组比较差异无统计学意义($P>0.05$).

3 讨论

感染能够引发包括肝脏在内的多器官出现衰竭, 从而导致患者死亡. 张健等^[8]研究表明, 感染是肝硬化患者临床上最为多见的一类并发症, 特别是腹腔、腹膜感染更占据了极大的比例. 宋秦伟等^[9]研究表明, 肝硬化患者发生腹膜炎的风险高达67.6%. 黄云等^[10]研究表明, 感染是导致肝硬化患者死亡的重要促进性因素.

肝脏属于机体重要的免疫及防御器官, 能够维持正常人体的免疫, 当长期肝病发展, 导致患者最终出现肝硬化、肝纤维化时, 可以引发机体内部的细胞免疫调节功能发生紊乱, 造成非特异性免疫功能下降. 研究表明^[11], 肝硬化、肝纤维化发展, 最终导致肝功能衰竭的最重要因素在于体内内毒素的增加. 内毒素可以与库普弗细胞结合, 并释放诸如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1(interleukin, IL-1)、IL-6、IL-2、IL-8、血小板激活因子以及白三烯等. 均能够导致机体炎症发生, 并加重病情, 长期可以引发炎症级联反应以及恶性循环. 此外, 由于肝硬化患者大量的肝细胞坏死, 导致肝脏内的库普弗细胞被破坏、吞噬能力下降, 导致肠道内的菌体不能及时被清除^[12]. 因此, 内毒素还未经肝脏解毒就直接进入血液, 临床上极易发生内源性感染以及内毒素血症. 对内毒素的研究证明^[13], 其能够较大程度上改变全身代谢以及血液动力学, 在终末期肝病中, 能够诱导多种并发症的出现, 如上消化道出血、肝性脑病、肝肾综合征以及电解质紊乱等, 而这些并发症的出现均能够加重肝脏衰竭程度. 因此, 在临床治疗中, 如何有效、快速控制终末期肝病患者感染, 就成为防止并发症发生, 降低患者病死率的重要措施.

IG是临床上较常使用到的一种可以治疗自身免疫性疾病以及全身感染性疾病的药物. IG主要含有IgG分子以及IgG亚群分子, 还包含一些微量IgA、IgM、IgG的F(ab')₂片段以及可溶性的CD4、CD8及HLA分子. 现代药理学研究证实^[14], IG拥有调节免疫、抗炎抗感染的作用, 并揭示其作用机制主要通过IgG的Fc片段与吞噬细胞或淋巴细胞的Fc受体的作用来完成的. 此

外, IG还可以减轻补体介导的组织损伤, 诱生抗炎症细胞因子以及中和细菌毒素的作用. 研究还表明^[15], IG可以对前炎症细胞因子进行直接调控, 因此在早期炎症过程中起到重要的作用.

本研究发现Child-Pugh<10分的患者中, 无论观察组还是对照组, 有无使用IG, 治疗上均相对容易, 且疗效较高. 本研究观察组治疗有效率为92.86%, 与对照组的96.15%相比, 差异并无显著的差异. 此外, 我们也发现, 在肝硬化患者发生感染后, TB以及PT即开始出现明显的升高, 特别在Child-Pugh 10-15分患者当中, 这种上升更为明显. 说明随着肝硬化程度的上升, 患者发生感染后, 导致的功能性影响亦越大. 经过治疗, 可以发现观察组有着84.00%的治疗有效率, 较对照组的46.15%有着显著的差异. 说明即使合理使用抗生素, 对于病情较重的肝硬化合并感染患者, 往往治疗效果有限. 而IG的使用则增加了治疗的疗效, 能够起到辅助抗生素一共进行抗感染. 此外, 治疗期间, 两组患者共有10例出现霉菌二重感染, 其中2例来源于观察组, 8例来源于对照组. 虽然两组差异无统计学意义, 但这可能和本研究样本较小有关. 但我们仍可以认为, 对Child-Pugh 10-15分的患者早期临床应用IG, 不但可以起到良好的抗感染效果, 还能够预防二重感染的发生. 其作用机制可能与IG可以针对性地调控对侵入病原体的吞噬效果. 因此, 对于肝细胞损伤严重, 吞噬细胞功能下降的终末期肝病患者而言, 早期补充IG显得尤为重要.

总之, 在常规抗感染以及综合治疗的基础上, 对于Child-Pugh评分位于10-15分的肝硬化合并感染患者早期应用IG, 不但能够早期控制感染, 提高治疗有效率, 还能一定程度上预防二重感染的发生. 这些疗效均能够在临床上提高患者的生存率, 降低死亡率. 本研究中, 由于样本数量较少, 虽不能直接证实IG具有减少二重感染的效果, 但从当前的研究结果而言, 还是有一定的临床指导价值的. 下一阶段, 可以考虑进行大样本的临床研究, 以进一步揭示IG的抗感染、抗二重感染作用.

4 参考文献

- 1 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2761-2770
- 2 罗建华, 李隆祥, 徐婷婷, 陈亦华, 张培峰. 矽肺患者反复呼吸道感染与免疫功能关系的临床研究. 中国全科医学 2012; 15: 400-401
- 3 杜兰霞, 褚燕君, 贾百灵, 陈香宇. IL-10、IL-18和内毒素在肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎中的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 850-854

■同行评价

本研究设计合理, 结构合理, 语言流畅, 对临床医师尤其是基层医师有一定的参考价值.

- 4 Kempnińska-Podhorecka A, Wunsch E, Jarowicz T, Raszeja-Wyszomirska J, Loniewska B, Kaczmarczyk M, Milkiewicz M, Milkiewicz P. Vitamin d receptor polymorphisms predispose to primary biliary cirrhosis and severity of the disease in polish population. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 408723 [PMID: 22690210 DOI: 10.1155/2012/408723]
- 5 中国中西医结合学会消化疾病专业委员会. 肝硬化腹水的中西医结合诊疗共识意见. *中国中西医结合杂志* 2011; 31: 1171-1174
- 6 郑盛, 杨晋辉, 尤丽英, 唐映梅, 刘海. 208例自身免疫性肝病临床分析. *临床内科杂志* 2012; 29: 101-104
- 7 马欢, 张洁, 王邦茂. 原发性胆汁性肝硬化-自身免疫性肝炎重叠综合征44例临床特点及疗效分析. *中华消化杂志* 2012; 32: 236-240
- 8 张健, 李莉, 王文龙, 于江, 申爱. 肺炎支原体抗体分型检测和被动颗粒凝集检测结果比较. *中华检验医学杂志* 2012; 35: 639-642
- 9 宋秦伟, 朱汝南, 邓洁, 王芳, 赵林清, 孙宇, 丁雅馨, 钱渊. 血清特异性抗体检测在儿童呼吸道病毒感染病原诊断中应用的探讨. *中华儿科杂志* 2012; 50: 440-444
- 10 黄云, 詹锋, 林书典, 陈道军, 李文宁. 免疫球蛋白防治肾移植后T淋巴细胞降低肺部感染. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 5: 3267-3270
- 11 王雷, 段建华. 68例小儿难治性肺炎支原体肺炎临床分析. *中华实验和临床病毒学杂志* 2011; 25: 224-226
- 12 邓莉平, 桂希恩, 熊勇, 高世成, 荣玉萍, 杨蓉蓉, 胡锦枝. 抗反转录病毒治疗人类免疫缺陷病毒/丙型肝炎病毒合并感染者终末期肝病的发生率及危险因素. *中华传染病杂志* 2012; 30: 484-489
- 13 施光峰, 黄翀. 肝病患者抗生素的合理使用. *中华肝病杂志* 2012; 20: 182-184
- 14 尹蔚华, 周锡进. 应用终末期肝病模型评分与Child-Turcotte-Pugh分级预测肝衰竭预后的临床价值. *中国医师进修杂志* 2012; 35: 55-57
- 15 Tunccan OG, Tufan A, Telli G, Akyürek N, Pamukçuoğlu M, Yılmaz G, Hızıl K. Visceral leishmaniasis mimicking autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, and systemic lupus erythematosus overlap. *Korean J Parasitol* 2012; 50: 133-136 [PMID: 22711924 DOI: 10.3347/kjp.2012.50.2.133]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石, 贵阳医学院附属医院放射科 贵州省贵阳市 550004

蒋天鹏, 副主任医师, 临床医学专业硕士, 主要从事外周介入的治疗与临床研究。

作者贡献分布: 蒋天鹏与王黎洲对此文所作贡献均等; 此课题由蒋天鹏、王黎洲及周石设计; 研究过程由蒋天鹏、王黎洲、李兴、宋杰及吴晓萍操作完成; 数据分析由王黎洲完成; 本论文写作由蒋天鹏与王黎洲完成。

通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院。jittpp@sina.com

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-24

接受日期: 2013-07-26 在线出版日期: 2013-08-18

Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xing Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. jittpp@sina.com

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-24

Accepted: 2013-07-26 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effectiveness of transcatheter arterial chemoembolization (TACE) in patients with nonresectable combined hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiocarcinoma and to analyze the prognostic factors affecting survival of patients after TACE.

METHODS: Clinical data for 50 patients who underwent TACE for nonresectable combined HCC-cholangiocarcinoma were retrospectively analyzed. The survival rate and the prognostic factors affecting patient survival were evaluated.

RESULTS: After TACE, 35 (70%) of the 50 patients

were classified as responders having either a partial response or stable disease and 15 (30%) were classified as non-responders. Tumor response was significantly related to tumor vascularity. One (10%) of the 10 patients with hypovascular tumors and 34 (85%) of the 40 patients with hypervascular tumors were responders ($P < 0.001$). The median survival period was 12.3 months. Multivariable Cox regression analysis proved that tumor size ($HR = 2.49$, $P = 0.028$), tumor vascularity ($HR = 4.19$, $P = 0.001$), Child-Pugh class ($HR = 4.3$, $P = 0.001$), and portal vein invasion ($HR = 6.45$, $P < 0.001$) were independent factors associated with patient survival after TACE.

CONCLUSION: TACE is safe and effective in improving the survival of patients with nonresectable combined HCC-cholangiocarcinoma. Tumor vascularity is highly associated with tumor response.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Transcatheter arterial chemoembolization; Hepatocellular carcinoma; Cholangiocarcinoma; Treatment effect

Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S. Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after transcatheter arterial chemoembolization: Therapeutic response and prognostic factors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2349-2354 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2349.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2349>

摘要

目的: 评价不可切除的混合型肝癌患者进行肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)临床的有效性和分析TACE治疗后患者生存及预后的因素。

方法: 回顾性分析50例接受TACE治疗不可切除混合型肝癌患者的临床资料, 分析并提炼出对患者临床疗效预后及有影响的重要因素。

结果: 经TACE治疗, 35(70%)例患者发生肿瘤

■背景资料

回顾性分析50例接受肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗不可切除混合型肝癌患者的临床资料, 分析并提炼出对患者临床疗效预后及有影响的重要因素。

■同行评议者

王悦华, 副主任医师, 首都医科大学附属宣武医院外科

■ 研究前沿

由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低,其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少。目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点。混合型肝癌即使通过手术切除,因其复发率较高,5年生存率不到30%。不适合手术切除的混合型肝癌患者预后更差。

坏死(坏死面积>50%), 15(30%)例患者无反应。在10例乏血供肿瘤患者中有1例(10%), 在40例富血供肿瘤患者中有34例(85%)产生肿瘤坏死反应($P<0.001$)。患者平均中位生存期为12.3 mo。多变量Cox回归分析结果: 肿瘤大小($HR = 2.49, P = 0.028$), 肿瘤的血供($HR = 4.19, P = 0.001$), Child-Pugh分级($HR = 4.3, P = 0.001$), 门静脉癌栓($HR = 6.45, P<0.001$)是与TACE术后患者生存期相关的独立因素。

结论: TACE治疗对混合型肝癌是安全的, 与相同患者历史报道的生存率相比, 能有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存时间。肿瘤的血供情况与肿瘤反应高度相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝动脉灌注化疗栓塞术; 肝癌; 胆管癌; 疗效

核心提示: 肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization)治疗对混合型肝癌是安全的, 与相同患者历史报道的生存率相比, 能有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存时间。肿瘤的血供情况与肿瘤反应高度相关。

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石. 肝动脉灌注化疗栓塞术对混合型肝癌的疗效分析50例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2349-2354 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2349.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2349>

0 引言

大多数肝脏原发性恶性肿瘤可分为两类: 肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和胆管癌^[1]。胆管癌合并肝细胞肝癌非常罕见, 因为其同时具有肝细胞和胆管上皮细胞异常分化的组织学特点, 所占比例不到原发性肝癌的5%^[2,3]。Allen等^[4]在1949年首次对肝癌合并胆管癌的病例进行了报道, 但是由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低, 其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少。目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点^[5]。混合型肝癌即使通过手术切除, 因其复发率较高, 5年生存率不到30%^[6]。不适合手术切除的混合型肝癌患者预后更差, 还没有生存期超过18 mo患者的报道(中位生存期为6.5 mo)^[7]。

目前肝动脉灌注化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已被证明是可以延长混合型肝癌患者生存期的有效治疗手

段^[8-10]。为了评估混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素, 就我科近年来收治的混合型肝癌患者的临床资料进行一个回顾性的总结, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2002-01/2012-01接受TACE治疗的50例混合型肝癌患者的临床资料, 所有病例均在CT引导下经皮肝穿刺活检后病理学以及免疫组织化学结果证实, TACE术前均进行头部、胸部及全腹部CT增强扫描来评估肿瘤的特点及是否存在肝外转移。其中男41名, 女9名, 年龄31-79岁, 平均年龄56.3岁±9.7岁。

1.2 方法

1.2.1 TACE手术: 手术采用Seldinger技术经股动脉插管, 常规行肝动脉及肠系膜上动脉造影确定病灶大小及血供状况, 同时间接门静脉造影观察有无门静脉侵犯及其程度。尽可能超选择至肿瘤供血动脉并确认后, 在行肿瘤血管栓塞先前经导管注入奥沙利铂, 注射时间>15 min。接下来将碘化油及吡柔比星混合乳剂缓慢经导管注入。奥沙利铂剂量为130 mg/m², 吡柔比星根据肿瘤肿瘤的血供情况剂量为25-40 mg/m²。对于碘油用量超过20 mL仍未完全栓塞的肿瘤供血动脉则使用明胶海绵颗粒(规格直径1000-1200 μm)栓塞, 一直到肿瘤供血动脉发生血流淤滞时停止。

1.2.2 数据的定义和分析: 肿瘤反应的定义为在术后CT随访中发现肿瘤的最大直径至少减少30%(部分缓解)或不仅肿瘤的大小大幅下降而且出现超过50%坏死区域(肿瘤坏死面积>50%且患者病情稳定)^[11,12]。无反应的定义为患者病情稳定且肿瘤坏死区域低于50%或病情逐渐加重。根据CT增强扫描获得肿瘤动脉期的强化程度将肿瘤的供血情况分为富血供肿瘤和乏血管肿瘤。混合型肝癌病灶的分类与上面相似, 和邻近肝实质相比大面积强化或超过50%区域强化被归类为富血管性肿瘤。混合型肝癌增强扫描动脉期病灶区域强化不到50%或强化程度小于或等于相邻肝实质定义为乏血供肿瘤^[13,14]。并发症的定义为TACE术后6 wk内发生有临床体征的亚急性肝功能衰竭(例如肝性脑病、新产生或增加的腹水肝脓肿, 急性肾功能衰竭和/或肝梗死)^[15]。栓塞后综合征包括短暂的发烧、恶心、呕吐、和/或腹部疼痛, 不视为TACE术后并发症, 并且死亡率的定义为TACE术后30 d内发生

的死亡。

1.2.3 随访: 随访常规在术后1 mo进行, 内容包括体格检查和实验室检查(包括血细胞计数, 肝功能和甲胎蛋白(alpha-fetal protein, AFP), 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA), 或CA19-9水平的测定)。因为单独的实体瘤疗效评价标准并不能全面反映TACE术后肿瘤的相关变化。我们对肿瘤反应的评估是通过术后18-67 d复查腹部增强CT扫描来进行, 平均 30.7 ± 8.7 d。由两名放射科医师使用CT机电游标卡尺测量术前肿瘤的大小及术后肿瘤坏死区域(碘化油沉积或是缺少强化)的最大直径^[16,17]。其中肿瘤的坏死区域由两名具有副高级职称的放射科医师在TACE术后以术前CT扫描为基础进行评估^[18]。再次行TACE手术的指针为在CT随访中发现新的或残余肿瘤病灶, 且血清AFP、CEA、CA19-9浓度升高, 如果患者由于健康状况下降而不能耐受治疗, 立即停止TACE治疗。

统计学处理 数据运用SPSS19.0统计分析软件包进行分析。所有变量均以(mean±SD)表示。整体患者的生存期是在首次TACE治疗后以月为单位进行计算。累积生存率曲线根据Kaplan-Meier法和Log-rank检验的结果进行比较。为评估患者的生存期及预后我们对以下因素进行分析: 包括患者的年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤数目、增强CT上观察到的肿瘤血管、辅助治疗(全身化疗或放疗)、门静脉癌栓、肝外转移、血清AFP、CEA和CA 19-9水平以及肝功能Child-Pugh分级。根据肿瘤大小将患者分为两组, 直径为9 cm或更大的为一组, <9 cm的为另一组。以中位生存率为基础将肿瘤的数量和血清AFP、CEA、CA 19-9水平分为2组。进行单变量和多变量Cox回归分析以评估患者的生存时间。包括在单变量模型中显著因素或显示一个趋势走向意义($P<0.2$)进行相关因素分析。在逐步向前的选择方式中设置变量, 也就是说, 设置并保留一个 P 值为0.05的变量来表明差异有统计学意义。可变风险通过相应95%可信区间的危险比来表示。使用Fisher精确检验来评估肿瘤血管和肿瘤反应之间的关系。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床情况 40例患者(80%)病因为感染乙型肝炎病毒, 2例患者(4%)丙型肝炎病毒抗体阳性, 8例患者(16%)同时发现两种病毒感染。27例患者

(54%)有慢性肝炎, 19例患者(38%)有肝硬化, 4例患者(8%)既没有肝硬化也无慢性肝炎。在31例患者(62%)中AFP水平升高(>20 ng/mL), 在8例患者(16%)中CEA水平升高(>6 ng/mL), 14例患者中(28%)CA 19-9水平升高(>37 U/mL)。AFP、CEA和CA19-9水平的中位数和范围分别为37 ng/mL(1.2-43100 ng/mL), 2.7 ng/mL(0.4-50.6 ng/mL)和23.8 U/mL(范围1.5-641 U/mL)。11例患者(22%)发生了远处转移(淋巴结转移7例, 淋巴结和骨转移2例, 肺转移2例)。恶性肿瘤患者淋巴结短轴直径 >1 cm认为是有肿瘤活性的^[19]。13例(26%)患者发生了门静脉癌栓, (门静脉主干癌栓7例, 门静脉分支癌栓1例, 节段性门静脉癌栓5例), 4例(8%)患者发生了胆管扩张。6例患者进行了局部放疗, 2例患者接受了全身化疗, 2例患者既接受了局部放疗又进行了全身化疗。2例患者和6例合并肝外转移(淋巴结或骨)的患者进行了全身放疗。

2.2 肿瘤反应 TACE治疗后, 7名患者表现为部分缓解(最大肿瘤直径减少 $>30\%$)(图1), 28例产生有效的肿瘤坏死(坏死面积 $>50\%$)。尽管经过TACE治疗, 10例患者术后病情无明显变化且肿块坏死面积低于50%, 其中5例患者肿瘤进一步增大(肿瘤最大直径增加 $>20\%$)(图2)。因此35例患者(70%)被列为有反应, 15患者(30%)被归为无反应。肿瘤反应与肿瘤的血供显著相关: 在10例乏血供肿瘤患者中有1例(10%), 在40例富血供肿瘤患者中有34例(85%)产生肿瘤坏死反应($P<0.001$)。

2.3 并发症和死亡率 21例(42%)患者发生了栓塞后综合征并在7 d内自动消失。2例患者(4%)发生了TACE治疗相关的并发症。1例患者发生了肝脓肿, 1例患者发生了急性肾功能衰竭, 发生肝脓肿的患者通过经皮肝脓肿穿刺引流和抗生素治疗后好转。发生急性肾功能衰竭的患者最终在治疗后也肾功能也得到了恢复。没有患者在TACE术后30 d之内死亡。

2.4 随访和患者生存期的相关因素 37例患者在随访期间死亡(平均10.8 mo; 范围1.4-57 mo)。中位生存期为12.3 mo(95%CI: 6.7-17.9)。1年生存率分别为52%, 2年为38%, 3年为16%, 4年为12%。多变量Cox回归模型中单变量分析 $P<0.2$: 肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 门静脉癌栓, 辅助治疗, 肝外转移, 血清CEA水平, 血清CA19-9水平。多变量Cox回归分析证实肿瘤大

■ 相关报道

Allen和Lisa在1949年首次对肝癌合并胆管癌的病例进行了报道, 但是由于肝细胞肝癌又合并胆管癌的发生率低, 其人口统计学和临床特征、预后因素等仍然知之甚少。目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点。

■ 创新盘点

目前仅有少数小规模的研究描述了肝癌合并胆管癌的临床特点。混合型肝癌即使通过手术切除,因其复发率较高,5年生存率不到30%。目前TACE已被证明是可以延长混合型肝癌患者生存期的有效治疗手段。本文评估混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素。

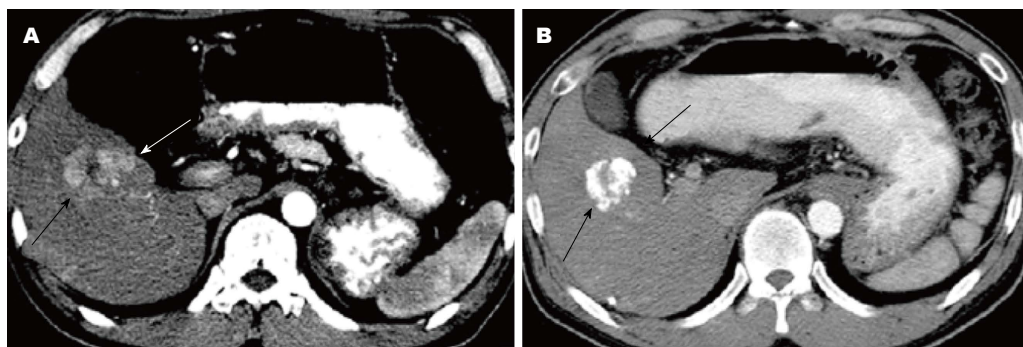


图 1 57岁男性混合型肝癌不能耐受手术切除患者的轴位CT扫描。A: CT增强扫描后动脉期显示第五肝段的富血供肿块(箭头表示); B: 首次TACE术后1 mo行CT增强扫描后动脉期显示瘤体有大量碘化油沉积(箭头表示)和肿瘤体积缩小(坏死面积>30%, 肿瘤直径由术前的45 mm降至术后的31 mm)。

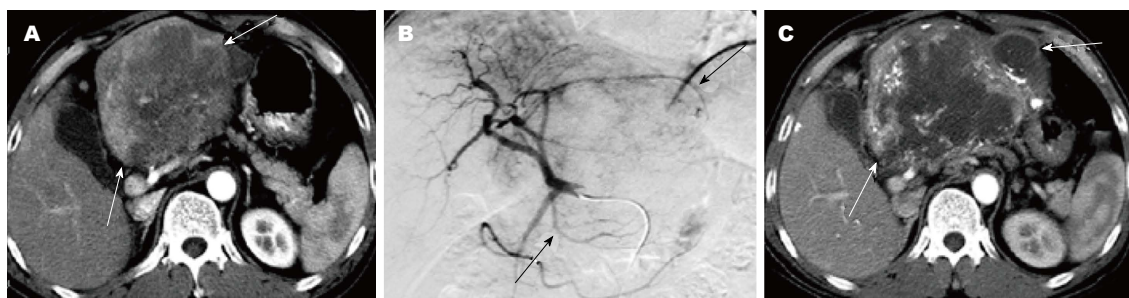


图 2 79岁男性混合型肝癌患者的图像。A: 首次TACE术前3天前腹部CT增强扫描动脉期显示肝左叶的一个巨大肿块(箭头表示); B: 肝动脉造影显示为边缘染色浅淡的乏血供肿块(箭头表示); C: 首次TACE术后1 mo行腹部CT增强扫描动脉期显示乏血供肿块碘化油沉积很少且继续进展(坏死面积>20%, 肿瘤直径由术前的124 mm增加至术后的160 mm)(箭头表示)。

小、肿瘤的血供, Child-Pugh分级和门静脉癌栓是与TACE治疗后患者生存期相关的独立因素。肿瘤最大直径超过9 cm, 乏血供肿瘤, Child-Pugh分级B级或以上, 存在门静脉癌栓是患者的生存预后的不良因素。

3 讨论

3.1 关于TACE治疗混合型肝癌 从组织学的角度来说, 胆管癌可以发展成肝癌或肝脏肿瘤的原因可能是起源于可以分化成肝细胞和胆管上皮细胞的同一个干细胞^[1]。胆管癌是混合型肝癌其中的一部分可能是由部分肝癌组织的变异所产生, 混合型肝癌和肝细胞肝癌患者的临床病理诊断相似, 例如平均年龄(均为60岁), 都以男性患者居多, 在病毒性肝炎, AFP水平升高, 肝硬化等方面均为阳性^[20]。我们同样发现了类似的临床病理特点: 84%的患者乙型或丙型肝炎病毒抗体为阳性, 82%为男性, 62%的患者有AFP升高, 54%的患者已基本确诊为肝硬化。然而混合型肝癌的显著特点是他既像肝细胞肝癌一样易形成门静脉癌栓, 又像胆管癌一样易发生淋巴结转移或包绕胆管^[1]。在目前的研究中26%的患者发

生了门静脉癌栓, 18%的患者发生了淋巴结转移, 8%的患者发生了胆管扩张。因此, 虽然混合型肝癌的临床特征与肝细胞肝癌相似, 但混合型肝癌患者的预后较差, 可能与淋巴结转移或侵犯胆管有关^[6]。目前TACE已成为治疗不可手术切除肝癌的首选^[8-10]。TACE治疗相对于全身化疗的重要优势在于他增加了化疗药物在病灶的区域集中, 并通血管栓塞剥夺了癌组织的血液供应, 最大限度地杀死癌细胞, 同时保留健康的肝组织, 减少全身不良反应^[21]。富血供的肝肿瘤在TACE治疗后能产生稳定反应是因为化疗药物和栓塞材料的交叉使用在TACE治疗后能够产生更好地选择性和有效性。然而, 在我们目前的研究中40(80%)名患者增强CT扫描动脉期显示为富血供肿块, 从而使化疗药物和栓塞材料能够选择性、交互地导致其中的34(85%)例患者在术后产生肿瘤反应。因此, TACE能够减少不可切除混合型肝癌患者肿瘤显著病变区域的血供, 从而延迟患者病情的恶化和进展。在所有患者中, TACE治疗的耐受性良好, 没有死亡率和低并发症发生率(4%; 1例发生肝脓肿, 1例发生急性肾功能衰竭)。在我们的研究中, 样本的数量太

少应被视为一种局限性。首先, 我们的研究有一个回顾性的设计但却没有对照组。然而, 由于混合型肝癌的低发生率和医学伦理的原因, 进行前瞻性的随机对照试验也是很困难的; 其次, 由于研究时间过长(>10年), 在评估肿瘤血管的CT技术发生了许多改进。然而, 我们相信我们的研究样本均充分地评估过病变血管。由于我们研究是回顾性的, CT随访和TACE治疗之间的时间间隔并不均匀且变化很大; 最后, 我们并没有严格遵守适用于所有>1 cm病灶的实体瘤反应评价标准, 但是我们是在最大的靶病变的基础上评估肿瘤反应。

3.2 对TACE术后患者生存期的影响因素 患者在TACE术后的中位生存期为12.3 mo, 比报道接受保守治疗的混合型肝癌患者6.5 mo的中位生存期^[8,12]大大地延长。在我们的多变量Cox回归分析模型显示: 肿瘤大小、肿瘤的血供、Child-Pugh分级、门静脉癌栓是与TACE治疗后患者生存期长短显著相关的预后因素。在本研究中, 影响患者生存期的不良预后因素为肿瘤最大直径超过9 cm、乏血供的肿瘤、Child-Pugh分级为B级和合并门静脉癌栓。我们相信TACE治疗后的混合型肝癌患者的存活率与肝细胞肝癌患者相似^[22], 可能取决于肿瘤的负荷和潜在的肝脏功能。此外, 由于肿瘤浸润门静脉造成门静脉阻塞后可能会减少正常肝组织的血液供应^[23], 从而增加了肿瘤全肝广泛扩散的风险^[24], 也可能是混合型肝癌患者TACE治疗后的一个减少生存时间的重要危险因素。因为乏血供混合型肝癌患者与富血供混合型肝癌患者相比反应更差[10% vs 85%, $P<0.001$ (Fisher精确检验)]和预后更差(中位生存期, 4 mo vs 16 mo, $P<0.001$)(Kaplan-Meier法, 使用Log-rank检验)。我们假定混合型肝癌的肿瘤供血情况取决于肿瘤的成分。换句话说, 如果混合型肝癌的大部份组织为胆管癌, 他可能是乏血供的。乏血供的混合型肝癌比富血混合型肝癌的不同可能是侵犯性更强。TACE可能无法有效地用于治疗乏血供的混合型肝癌, 因为与富血供病灶相比化疗药物或栓塞材料不能有效地并选择性地灌注并保留在病灶中。最近使用钇90(90Y)对乏血供肝脏恶性肿瘤, 如肝内胆管细胞癌或大肠癌肝转移^[25]患者进行放射栓塞的姑息治疗已显示出可喜的成果。使用钇90放射栓塞治疗不可切除的乏血供混合型肝癌可能是一种有效的治疗选择。

总之, TACE治疗是安全, 与历史文献报告相

比可有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存期。肿瘤的血供与肿瘤反应高度相关。TACE治疗混合型肝癌患者的生存益处很大程度上取决于肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 是否合并门脉癌栓。鉴于本研究的结果, 我们目前已经放弃使用TACE治疗乏血供混合型肝癌。

4 参考文献

- Kim KH, Lee SG, Park EH, Hwang S, Ahn CS, Moon DB, Ha TY, Song GW, Jung DH, Kim KM, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Surgical treatments and prognoses of patients with combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 623-629 [PMID: 19130133 DOI: 10.1245/s10434-008-0278-3]
- Aoki K, Takayasu K, Kawano T, Muramatsu Y, Moriyama N, Wakao F, Yamamoto J, Shimada K, Takayama T, Kosuge T. Combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: clinical features and computed tomographic findings. *Hepatology* 1993; 18: 1090-1095 [PMID: 7693572 DOI: 10.1002/hep.1840180512]
- 周建雄, 戴洪修, 杨静. 肿块型肝内胆管细胞癌: 多排CT的动脉期强化与临床病理的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 8: 694-698
- Allen RA, Lisa JR. Combined liver cell and bile duct carcinoma. *Am J Pathol* 1949; 25: 647-655 [PMID: 18152860]
- Lin G, Toh CH, Wu RC, Ko SF, Ng SH, Chou WC, Tseng JH. Combined hepatocellular cholangiocarcinoma: prognostic factors investigated by computed tomography/magnetic resonance imaging. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 1199-1205 [PMID: 17537192 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01291.x]
- Jarnagin WR, Weber S, Tickoo SK, Koea JB, Obiekwe S, Fong Y, DeMatteo RP, Blumgart LH, Klimstra D. Combined hepatocellular and cholangiocarcinoma: demographic, clinical, and prognostic factors. *Cancer* 2002; 94: 2040-2046 [PMID: 11932907 DOI: 10.1002/cncr.10392]
- Tickoo SK, Zee SY, Obiekwe S, Xiao H, Koea J, Robiou C, Blumgart LH, Jarnagin W, Ladanyi M, Klimstra DS. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: a histopathologic, immunohistochemical, and in situ hybridization study. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 989-997 [PMID: 12170085 DOI: 10.1097/00000478-200208000-00003]
- Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-1739 [PMID: 12049862 DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08649-X]
- 王胜强, 梁茂全, 毛景松, 邢榕, 苏洪英. TACE治疗不同年龄组原发性肝癌367例. *世界华人消化杂志* 2012; 24: 2288-2292
- Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-442 [PMID: 12540794 DOI: 10.1053/jhep.2003.50047]

■应用要点

TACE治疗是安全, 与历史文献报告相比可有效地延长不可切除的混合型肝癌患者的生存期。肿瘤的血供与肿瘤反应高度相关。TACE治疗混合型肝癌患者的生存益处很大程度上取决于肿瘤大小, 肿瘤的血供, Child-Pugh分级, 是否合并门脉癌栓。

■同行评价

本文设计合理, 准确地评估分析了混合型肝癌患者接受TACE治疗的临床疗效并分析术后影响患者生存预后的因素。

- 11 Kim JH, Yoon HK, Sung KB, Ko GY, Gwon DI, Shin JH, Song HY. Transcatheter arterial chemoembolization or chemoinfusion for unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma: clinical efficacy and factors influencing outcomes. *Cancer* 2008; 113: 1614-1622 [PMID: 18704990 DOI: 10.1002/cncr.23787]
- 12 Covey AM, Maluccio MA, Schubert J, BenPorat L, Brody LA, Sofocleous CT, Getrajdman GI, Fong Y, Brown KT. Particle embolization of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Cancer* 2006; 106: 2181-2189 [PMID: 16596622 DOI: 10.1002/cncr.21883]
- 13 Katyal S, Oliver JH, Peterson MS, Chang PJ, Baron RL, Carr BI. Prognostic significance of arterial phase CT for prediction of response to transcatheter arterial chemoembolization in unresectable hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1665-1672 [PMID: 11090401 DOI: 10.2214/ajr.175.6.1751665]
- 14 Ebied OM, Federle MP, Carr BI, Pealer KM, Li W, Amesur N, Zajko A. Evaluation of responses to chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 1042-1050 [PMID: 12569604 DOI: 10.1002/cncr.11111]
- 15 Kothary N, Weintraub JL, Susman J, Rundback JH. Transarterial chemoembolization for primary hepatocellular carcinoma in patients at high risk. *J Vasc Interv Radiol* 2007; 18: 1517-1526; quiz 1527 [PMID: 18057286 DOI: 10.1016/j.jvir.2007.07.035]
- 16 Park JO, Lee SI, Song SY, Kim K, Kim WS, Jung CW, Park YS, Im YH, Kang WK, Lee MH, Lee KS, Park K. Measuring response in solid tumors: comparison of RECIST and WHO response criteria. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 533-537 [PMID: 14623923 DOI: 10.1093/jjco/hyg093]
- 17 Georgiades CS, Hong K, D'Angelo M, Geschwind JF. Safety and efficacy of transarterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma and portal vein thrombosis. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16: 1653-1659 [PMID: 16371532 DOI: 10.1097/01.RVI.0000182185.47500.7A]
- 18 Forner A, Ayuso C, Varela M, Rimola J, Hessheimer AJ, de Lope CR, Reig M, Bianchi L, Llovet JM, Bruix J. Evaluation of tumor response after locoregional therapies in hepatocellular carcinoma: are response evaluation criteria in solid tumors reliable? *Cancer* 2009; 115: 616-623 [PMID: 19117042 DOI: 10.1002/cncr.24050]
- 19 Yoon YC, Lee KS, Shim YM, Kim BT, Kim K, Kim TS. Metastasis to regional lymph nodes in patients with esophageal squamous cell carcinoma: CT versus FDG PET for presurgical detection prospective study. *Radiology* 2003; 227: 764-770 [PMID: 12773680 DOI: 10.1148/radiol.2281020423]
- 20 Maeda T, Adachi E, Kajiyama K, Sugimachi K, Tsuneyoshi M. Combined hepatocellular and cholangiocarcinoma: proposed criteria according to cytokeratin expression and analysis of clinicopathologic features. *Hum Pathol* 1995; 26: 956-964 [PMID: 7545644 DOI: 10.1016/0046-8177(95)90084-5]
- 21 Liapi E, Geschwind JF. Transcatheter and ablative therapeutic approaches for solid malignancies. *J Clin Oncol* 2007; 25: 978-986 [PMID: 17350947 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.8657]
- 22 Brown DB, Chapman WC, Cook RD, Kerr JR, Gould JE, Pilgram TK, Darcy MD. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma: patient status at presentation and outcome over 15 years at a single center. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 608-615 [PMID: 18287429 DOI: 10.2214/AJR.07.2879]
- 23 Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Kojiro M, Makuuchi M, Yamaoka Y. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology* 2006; 131: 461-469 [PMID: 16890600 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.021]
- 24 Zhang XB, Wang JH, Yan ZP, Qian S, Du SS, Zeng ZC. Hepatocellular carcinoma with main portal vein tumor thrombus: treatment with 3-dimensional conformal radiotherapy after portal vein stenting and transarterial chemoembolization. *Cancer* 2009; 115: 1245-1252 [PMID: 19156918 DOI: 10.1002/cncr.24139]
- 25 Jakobs TF, Hoffmann RT, Dehm K, Trumm C, Stemmler HJ, Tatsch K, La Fougere C, Murthy R, Helmberger TK, Reiser MF. Hepatic yttrium-90 radioembolization of chemotherapy-refractory colorectal cancer liver metastases. *J Vasc Interv Radiol* 2008; 19: 1187-1195 [PMID: 18656012 DOI: 10.1016/j.jvir.2008.05.013]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



老年高血脂性急性胰腺炎患者行血浆置换法术后的临床效果分析74例

赵爱荣, 张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣

赵爱荣, 唐山工人医院护理部 河北省唐山市 063000
张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣, 唐山工人医院重症医学科 河北省唐山市 063000
赵爱荣, 副主任护师, 主要从事消化疾病的护理工作。
作者贡献分布: 此课题由赵爱荣设计; 研究过程由赵爱荣、张慧、田晓华及刘阳实施完成; 数据分析由刘阳、刘卫荣及田晓华完成; 本论文写作由赵爱荣、张慧、田晓华、刘阳及刘卫荣共同完成。
通讯作者: 赵爱荣, 副主任护师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山工人医院护理部。2006818kz@sina.com
收稿日期: 2013-07-16 修回日期: 2013-07-24
接受日期: 2013-07-29 在线出版日期: 2013-08-18

Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases

Ai-Rong Zhao, Hui Zhang, Xiao-Hua Tian, Yang Liu, Wei-Rong Liu

Ai-Rong Zhao, Department of Nursing, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Hui Zhang, Xiao-Hua Tian, Yang Liu, Wei-Rong Liu, Department of ICU, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China
Correspondence to: Ai-Rong Zhao, Associate Chief Nurse, Department of Nursing, Tangshan Gongren Hospital, 27 Wenhua Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. 2006818kz@sina.com
Received: 2013-07-16 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-07-29 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effects of plasma exchange (PE) in the treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis (HLP) in elderly patients.

METHODS: Seventy-four elderly patients with HLP who were treated at our hospital from April 2011 to April 2013 were randomly divided into either a control group or a treatment group. The control group was given routine drug treatment, and the treatment group underwent PE on the basis of routine drug treatment. Clinical efficacy of PE was assessed.

RESULTS: Clinical symptoms of patients in the treatment group improved significantly 72 h after treatment. For example, heart rate decreased to the normal level, APACHE II score and serum levels of triacylglycerol, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α decreased significantly (all $P < 0.05$). The total effective rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (94.59% vs 78.38%, $\chi^2 = 4.1625$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: PE is effective in the treatment of HLP in elderly patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hyperlipidemia; Acute pancreatitis; Plasma exchange; Nursing

Zhao AR, Zhang H, Tian XH, Liu Y, Liu WR. Therapeutic effect of plasma exchange in treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis in elderly patients: An analysis of 74 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2355-2358
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2355.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2355>

摘要

目的: 探讨血浆置换法(plasma exchange, PE)治疗老年高血脂性急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的疗效及护理体会。

方法: 随机选取我院在2011-04/2013-04收治的老年高血脂性AP患者74例, 随机分为对照组和治疗组, 对照组进行常规药物治疗, 治疗组在常规药物的基础上使用PE治疗, 检测患者的临床疗效, 并总结护理体会。

结果: 经治疗后72 h, 患者临床症状改善明显, 心率(heart rhythm, HR)降低至正常, APACHE II评分下降明显($P < 0.05$); 血清三酰甘油(triacylglycerol, TG)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)亦明显下降($P < 0.05$)。对照组总有效率为78.38%, 治疗组总有效率为94.59%, 两组间差异显著($\chi^2 = 4.1625$, $P < 0.05$)。

■背景资料

随着人民生活水平的逐步提高, 约有15%以上的胰腺炎为高血脂性胰腺炎, 高血脂性胰腺炎主要的发病原因为血清三酰甘油水平升高, 因此治疗主要针对对高血脂症, 以降低血清三酰甘油水平为目的。目前使用血浆置换法降低三酰甘油水平是治疗高血脂性胰腺炎的有效方法。

■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

■ 研究前沿

近年来,由高脂血症所引发的急性胰腺炎越来越多,已成为急性胰腺炎的病因之一,持续性的高血脂症,可能会导致急性胰腺炎的病情加重、并发症增多,治愈率差等。

结论:老年高脂血症性AP患者经PE治疗,并精心观察与护理,就可以得到很好的治愈。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:高脂血症;急性胰腺炎;血浆置换;护理体会

核心提示:本研究采用血浆置换法治疗高脂血症性胰腺炎,并经针对性护理,治疗组总有效率达到94.59%,能有效的缓解患者的病情,效果显著。因此,对患者进行针对性的护理已经成为血浆置换法治疗高脂血症性胰腺炎的关键性因素之一。

赵爱荣, 张慧, 田晓华, 刘阳, 刘卫荣. 老年高脂血症性急性胰腺炎患者行血浆置换法后的临床效果分析74例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2355-2358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2355.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2355>

0 引言

近年来,由高脂血症所引发的急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)越来越多,已成为急性胰腺炎的病因之一,持续性的高血脂症,可能会导致急性胰腺炎的病情加重、并发症增多,治愈率差等^[1,2]。因此,高脂血症性AP的治疗除了禁食和药物外,积极快速、早期的降低血脂浓度同样具有重要的意义。目前对高脂血症性AP的治疗主要集中于降低血清三酰甘油(triacylglycerol, TG),并减轻机体的炎症反应^[3]。血浆置换法(plasma exchange, PE)可以显著降低患者的TG水平,已越来越多的应用于临床治疗^[4]。本研究随机选取我院在2011-04/2013-04收治的74例老年高脂血症性AP患者,使用PE方法治疗,并进行精心针对性护理,疗效显著,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2011-04/2013-04我院收治的老年高脂血症性急性胰腺炎患者74例,其中男39例,女35例;年龄32-74岁,平均年龄41.3岁±6.9岁;病程1-3年。病例纳入标准^[5]: (1)符合中国急性胰腺炎诊治指南(草案)的临床诊断及分级标准; (2)TG浓度≥11.30 mmol/L; (3)排除其他病因,确诊为老年高脂血症性急性胰腺炎; (4)均知情同意,并签署同意书。74例老年高脂血症性急性胰腺炎患者随机分为对照组和治疗组,经统计学分析,两组患者在性别、年龄和病情方面均无统计学意义($P < 0.05$)。对照组和观察组患者合并并发症:急性呼吸窘迫综合征分别5例和6

例,急性肾功能障碍分别为4例和7例,急性心力衰竭分别为3例和4例,上消化道出血分别为2例和3例,胰性脑病分别为3例和2例,休克分别为8例和9例。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者入院后进行常规治疗:进行液体补充、电解质紊乱的纠正以及平衡失调的酸碱值,同时禁食、解痉、对胃肠减压、控制胰酶的分泌、补充静脉或肠的营养,对症治疗,同时及时地进行手术干预。观察组患者在常规治疗的基础上进行PE治疗:联合使用Plasma-fluxP2S型血浆分离器和ADM08/ABM型床旁血滤系统,均由德国Fresenius公司生产。其中参数主要为血流量:150 mL/min,时间:1.5-2.0 h,置换血浆总量:2000-3000 mL/d,次数:1-4次(根据治疗情况决定),在治疗过程中使用4000-6000 U的低分子肝素抗凝。治疗目标为TG浓度≤5.65 mmol/L。

1.2.2 护理: (1)严密观察患者病情:观察患者的体温、呼吸、血压、皮肤状况以及意识情况,以30 min一次的频率进行记录,同时检测患者尿量,注意机体的酸碱平衡,遵医嘱及时进行药物治疗; (2)持续性心理护理:安抚患者的情绪,消除顾虑。以温和的口吻和态度介绍医院环境、主治医师、护理人员以及治疗的设备设施,从而降低患者对医院的陌生感; (3)观察及预防不良反应。治疗过程中与患者保持良好的互动,认真聆听患者的诉说,如出现发热、惧寒、皮肤瘙痒以及支气管哮喘等过敏症状,立即报告主治医师,并及时注射地塞米松进行抗敏治疗。在取回血浆后要良好的保温工作; (4)PE治疗后的护理。完成PE治疗后,使用肝素盐水进行封管保留,防止出现血栓,形成堵管现象。注意安排患者卧床休息,避免下床及端坐,避免用力,防止导管掉落。

1.2.3 观察指标: 分别测定治疗前、治疗后72 h患者心率、氧合指数、血氧饱和度、APACHE II评分、血清TG浓度;并采用ELISA法检测(试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司)血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平。

1.2.4 疗效判定标准: 治疗后根据患者的治疗状况分为3个级别^[6],其中治愈:患者临床表现消失,没有并发症,血尿淀粉酶恢复正常;好转:患者临床表现基本消失,并发症减少,血尿淀粉酶含量略高;无效:患者临床表现无缓解,血尿淀粉

表 1 治疗前后患者检测指标及APACHE II 积分变化 (mean \pm SD)

分组	指标	治疗前	治疗72 h
观察组	心率	110 \pm 15	85 \pm 10 ^{ac}
	氧合指数	333 \pm 48	176 \pm 38 ^{ac}
	血氧饱和度	0.94 \pm 0.01	0.92 \pm 0.05 ^{ac}
	APACHE II积分	14.5 \pm 7.9	11.8 \pm 4.1 ^{ac}
	TG(mmol/L)	17.5 \pm 7.3	6.9 \pm 3.5 ^{ac}
	IL-6(ng/L)	72.4 \pm 24.1	38.8 \pm 17.7 ^{ac}
	TNF- α (ng/L)	61.3 \pm 16.3	37.5 \pm 14.2 ^{ac}
对照组	心率	107 \pm 18	101 \pm 15
	氧合指数	322 \pm 58	287 \pm 48 ^a
	血氧饱和度	0.93 \pm 0.14	0.93 \pm 0.04
	APACHE II积分	15.2 \pm 7.1	14.6 \pm 5.9
	TG(mmol/L)	18.2 \pm 6.2	16.3 \pm 5.3
	IL-6(ng/L)	71.9 \pm 25.3	78.8 \pm 24.7
	TNF- α (ng/L)	62.9 \pm 16.5	56.5 \pm 14.1

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs B组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TG: 甘油三酯.

酶含量高, 以及在治疗过程中死亡. 总有效率 = 治愈率 + 好转率

统计学方法 采用SPSS18.0计量软件进行数据处理, 组间差异采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 时差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 观察指标 经治疗后72 h, 患者临床症状改善明显, 心率降至正常, APACHE II评分下降明显($P < 0.05$); 血清TG、IL-6及TNF- α 亦明显下降($P < 0.05$)(表1).

2.2 并发症发生情况 治疗后, 观察组中, 发生急性呼吸窘迫综合征、上消化道出血、胰性脑病各1例, 急性肾功能障碍3例, 其他急性并发症均得到控制. 对照组合并并发症: 急性呼吸窘迫综合征6例, 急性肾功能障碍5例, 急性心力衰竭3例, 上消化道出血3例, 胰性脑病3例, 休克3例, 其他急性并发症均得到控制.

2.3 有效率 治疗后对照组总有效率为78.38%, 治疗组总有效率为94.59%, 两组间差异显著($\chi^2 = 4.1625$, $P < 0.05$); 其中两组间治愈率差异显著($\chi^2 = 4.4966$, $P < 0.05$), 无效率差异显著($\chi^2 = 4.1625$, $P < 0.05$, 表2), 均具有统计学意义. 两组间好转率间差异不显著, 不具有统计学意义.

3 结论

随着人民生活水平的逐步提高, 约有15%以上的

表 2 治疗后两组患者临床疗效对比 ($n = 37$, $n(\%)$)

分组	治愈	好转	无效	总有效率
对照组	17(45.95)	12(32.43)	8(21.62)	29(78.38)
治疗组	26(70.27) ^a	9(24.32)	2(5.61) ^a	35(94.59) ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

胰腺炎为高血脂性AP^[7], 高血脂性AP主要的发病原因因为TG水平升高, 因此治疗主要针对高血脂症, 以降低TG水平为目的^[8,9]. 目前使用PE降低TG水平是治疗高血脂性AP的有效方法.

护士在患者入院后需要对其进行精心的护理, 以确保患者在治疗阶段保持最好的状态, 提高患者的治愈率. 对患者的护理主要集中于以下几个方面: (1)严密观察患者病情. 高血脂性AP患者一般病情比较重, 因此在进行治疗时, 要以严谨的态度观察患者的体表特征的变化^[10], 如体温、呼吸、血压、皮肤状况以及意识情况, 以30 min一次的频率进行记录, 同时检测患者尿量, 注意机体的酸碱平衡, 遵医嘱及时进行药物治疗, 在治疗过程中, 密切观察患者的情况, 聆听患者的诉说, 做到及时发现问题并解决问题; (2)持续性心理护理. 患者入院后可能会因为发病突然、疾病痛苦、环境压抑等各种因素, 出现情绪不稳、烦躁不安、抑郁等状况, 不能积极地配合治疗. 此时护理人员的工作就是安抚患者的情绪, 消除顾虑. 以温和的口吻和态度介绍医院环境、主治医师、护理人员以及治疗的设备设施, 从而降低患者对医院的陌生感. 积极主动的对患者讲述PE治疗的具体方法, 以及必要性^[11,12], 降低患者对治疗的恐惧, 并由经验丰富的护士为其穿刺, 同时联合患者家属, 对患者生活上给予鼓励和照顾; (3)观察及预防不良反应. 为避免在治疗过程中出现凝血现象以及治疗结束后出现出血现象, 故在置换血浆中需要使用合理的方案进行抗凝^[13]. 在治疗过程中使用低分子肝素进行抗凝, 或者使用加有50-100 mg 肝素的1500 mL的生理盐水进行冲洗. 治疗过程中因为输入大量的外源血浆, 极易导致变态现象和低血钙现象^[14]. 在治疗过程中与患者保持良好的互动, 认真聆听患者的诉说, 如出现发热、惧寒、皮肤瘙痒以及支气管哮喘等过敏症状, 立即报告主治医师, 并及时注射地塞米松进行抗敏治疗. 在取回血浆后要要进行良好的保温工作, 以避免低温血浆进入人体引起寒战; (4)PE

■应用要点

护理人员在胰腺炎患者的住院期间, 应密切注意患者的临床表现及病情变化, 注意患者机体的水电平衡和酸碱平衡; 注意防止过敏现象出现并及时治疗.

■同行评价

本文层次分明, 讨论条理, 对从事消化疾病的护理工作有一定参考价值。

治疗后的护理。完成PE治疗后, 使用肝素盐水进行封管保留, 防止出现血栓, 形成堵管现象。治疗结束后, 由护士送回病房并做好交接工作, 并交代继续观测患者的生命体征、尿量以及腹部体征, 水电解质的变化状况, 观察出血现象以及过敏现象的出现, 及时进行抽血化验。留管期间, 注意安排患者卧床休息, 避免下床及端坐, 避免用力, 防止导管掉落^[15]。为了防止导管的感染, 一定要保持穿刺部位的干燥清洁, 及时更换敷料。更换封管的肝素盐水时, 要先抽出管内的封管液, 再注入新的封管液, 同时用无菌纱布包扎并固定。导管拔出后无菌纱布覆盖, 绝对卧床休息24 h, 并严格观察是否继续出血以及动脉搏动情况。连续3 d, 每天更换一次无菌纱布。

本研究采用PE治疗高脂血症性AP, 治疗组总有效率达到94.59%, 能有效的缓解患者的病情, 效果显著。护理人员在患者的住院期间, 应密切注意患者的临床表现及病情变化, 注意患者机体的水电平衡和酸碱平衡; 注意防止过敏现象的出现并及时治疗。

总之, 对患者进行针对性的护理已经成为PE治疗高脂血症性AP的关键性因素之一。

4 参考文献

- 张瑜红, 唐国都. 高脂血症性胰腺炎的临床研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 2272-2274
- Cugnet-Anceau C, Moret M, Moulin P. [Hypertriglyceridemia: therapeutic strategy]. *Rev Prat* 2011; 61: 1110-1116 [PMID: 22135979]
- 郁国强, 曾军红, 裨江华, 李红军. 血浆置换联合血液透析滤过治疗重症急性胰腺炎临床疗效分析. 临床荟萃 2011; 26: 760-765
- Rozhkova TA, Ameliushkina VA, Iarovaia EB, Malyshev PP, Titov VN. [Clinical and laboratory detection of phenotypic characteristics in patients with high hypertriglyceridemia]. *Klin Lab Diagn* 2011; (5): 10-16 [PMID: 21786608]
- 周俊杰, 罗琼湘, 章雄军, 徐小强. 早期连续性血液净化治疗重症急性胰腺炎14例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 800-803
- 潘松球, 黎琦, 蒙陆丹, 曾巧. 血浆置换治疗高脂血症性急性胰腺炎的临床观察. 广西医学 2010; 32: 1185-1187
- Kadikoylu G, Yukselen V, Yavasoglu I, Coşkun A, Karaoglu AO, Bolaman Z. Emergent therapy with therapeutic plasma exchange in acute recurrent pancreatitis due to severe hypertriglyceridemia. *Transfus Apher Sci* 2010; 43: 285-289 [PMID: 20926345 DOI: 10.1016/j.bbr.2011.03.031]
- Syed H, Bilusic M, Rhondla C, Tavarria A. Plasmapheresis in the treatment of hypertriglyceridemia-induced pancreatitis: A community hospital's experience. *J Clin Apher* 2010; 25: 229-234 [PMID: 20818718 DOI: 10.1002/jca.20232]
- 顾冬玲. 28例急性重症胰腺炎的护理体会. 中国医药指南 2012; 10: 673-674
- 薛伟红. 高脂血症性急性胰腺炎临床分析. 中国实用医药 2010; 5: 90-91
- Hauenschild A, Bretzel RG, Schnell-Kretschmer H, Kloer HU, Hardt PD, Ewald N. Successful treatment of severe hypertriglyceridemia with a formula diet rich in omega-3 fatty acids and medium-chain triglycerides. *Ann Nutr Metab* 2010; 56: 170-175 [PMID: 20150726 DOI: 10.1159/000283561]
- 王玉柱, 秦涛, 张宏伟. 高脂血症性胰腺炎的治疗现状与进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2661-2664
- 冯红霞, 赵琦, 刘莉, 马勇. 从胰腺的受累部位探讨急性胰腺炎的发病机制. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 571-572
- 黄鹏, 王春友, 吴河水, 吴国俊, 黎建军. 持续血液滤过治疗高脂血症性急性胰腺炎24例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 964-968
- 张学军, 尹长江, 刘凤芹. 高脂血症相关性急性胰腺炎28例临床分析. 中华实用诊断与治疗杂志 2010; 24: 92-94

编辑 田滢 电编 鲁亚静



麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较

李春日, 荆秦, 刘林, 谷忠悦

李春日, 荆秦, 辽宁中医药大学针灸推拿学院实验针灸教研室 辽宁省沈阳市 110847

刘林, 辽宁中医药大学附属医院脾胃科 辽宁省沈阳市 110032

谷忠悦, 辽宁中医药大学针灸推拿学院针灸基础教研室 辽宁省沈阳市 110847

李春日, 主要从事心身疾病针刺干预方法及效应的研究。

国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2012CB518503

作者贡献分布: 李春日与谷忠悦对此文所作贡献均等; 此课题由李春日、刘林及谷忠悦设计; 研究过程由李春日、荆秦、刘林及谷忠悦操作完成; 数据分析由荆秦与刘林完成; 本论文写作由李春日、荆秦及刘林完成。

通讯作者: 谷忠悦, 教授, 110847, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路79号, 辽宁中医药大学针灸推拿学院针灸基础教研室。

470199@163.com

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-25

接受日期: 2013-07-29 在线出版日期: 2013-08-18

Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation

Chun-Ri Li, Qin Jing, Lin Liu, Zhong-Yue Gu

Chun-Ri Li, Qin Jing, Department of Experimental Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China

Lin Liu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning Province, China

Zhong-Yue Gu, Department of Based Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China

Supported by: the National Key Basic Research and Development Program, No. 2012CB518503

Correspondence to: Zhong-Yue Gu, Professor, Department of Based Acupuncture, College of Acupuncture and Moxibustion, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning Province, China. 470199@163.com

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-25

Accepted: 2013-07-29 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in the management of chronic functional constipation.

puncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in the management of chronic functional constipation.

METHODS: Seventy cases of chronic functional constipation were randomly and equally divided into two groups to receive either acupuncture combined with grain-shaped moxibustion or acupuncture group alone. Defecation styles, changes in clinical score of constipation and clinical efficacy were compared between the two groups.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the combination group than in the acupuncture group (80.0% vs 51.43%, $P < 0.05$). Moreover, the number of cases having autonomous defecation was significantly more in the combination group than in the acupuncture group. The improvement in difficulty of defecation, defecation time, abdominal pain, exsufflation difficulty, persistent sensation of defecation, sense of anal obstruction and purgative prescription dependence was more significant in the combination group than in the acupuncture group.

CONCLUSION: Acupuncture combined with grain-shaped moxibustion is more effective than acupuncture alone in improving symptoms in patients with chronic functional constipation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Grain-shaped moxibustion; Acupuncture; Chronic functional constipation

Li CR, Jin Q, Liu L, Gu ZY. Clinical efficacy of acupuncture combined with grain-shaped moxibustion versus acupuncture alone in management of chronic functional constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(23): 2359-2363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2359>

摘要

目的: 比较分析麦粒灸合针刺与单纯针刺治疗

■背景资料

目前, 西医药治疗慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC), 往往给予泻药, 保证患者的正常排便。针灸治疗是目前临床用于治疗功能性便秘的另一种方法, 在CFC的治疗中已经取得了一定的效果。麦粒灸是使用麦粒大小的艾炷放置于特点穴位上, 用灼烧局部穴位进行治疗的一种方法, 临床广泛应用于各系统的治疗中。

■同行评议者

扈晓宇, 教授, 主任医师, 成都中医药大学附属医院感染性疾病科

■研究前沿

临床研究还发现,长期使用泻剂,容易引发泻剂性肠病。因此,找到一种安全、可靠、疗效好的治疗方法,就成为CFC研究的热点。

慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)的疗效。

方法: 将70例CFC患者分为2组,每组各35例。其中观察组给予麦粒灸与针刺联合治疗,对照组单用针刺治疗。观察治疗前后2组患者的排便方式、便秘临床评分以及总疗效等指标。

结果: 观察组治疗总有效率为80.0%,高于对照组的51.43% ($\chi^2 = 6.34, P < 0.05$)。治疗后观察组能自主排便患者比例多于对照组(74.29% vs 45.71%, $P < 0.05$), 依赖泻药患者比例低于对照组(20.0% vs 45.71%, $P < 0.05$)。便秘临床评分方面,观察组排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感、依赖泻剂等得分均低于对照组($P < 0.05$)。

结论: 麦粒灸结合针刺治疗CFC, 疗效优于单纯针刺, 能显著改善CFC患者各项临床症状。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 麦粒灸; 针刺; 慢性功能性便秘

核心提示: 本研究将麦粒灸联合针刺作为慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)的治疗方案, 同单纯针刺治疗CFC进行了疗效学及相关症状的观察。首先, 通过2个疗程的治疗, 可以发现观察组治疗总有效率达到80.0%, 高于对照组的51.43%。提示麦粒灸与针刺合用, 可以提高单纯针刺的疗效。

李春日, 荆秦, 刘林, 谷忠悦. 麦粒灸结合针刺与单纯针刺治疗慢性功能性便秘的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2359-2363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2359>

0 引言

慢性功能性便秘(chronic functional constipation, CFC)是消化科较为常见的一类病症, 临床研究表明^[1], 本病近年来的发病率呈现明显的上升趋势, 严重影响了患者的日常生活。目前, 西医药治疗CFC, 往往给予泻药, 保证患者的正常排便^[2]。针灸治疗是目前临床用于治疗CFC的另一种方法, 在CFC的治疗中已经取得了一定的效果。麦粒灸是使用麦粒大小的艾炷放置于特点穴位上, 用灼烧局部穴位进行治疗的一种方法, 临床广泛应用于各系统的治疗中^[3]。我院在临床治疗CFC, 采用麦粒灸联合针刺的治疗方案, 取得了较好的临床疗效, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入CFC患者70例, 均为我院2012-06/2013-01门诊及住院患者。根据临床治疗方案的不同, 将70例患者分为2组。观察组35例, 治疗上给予麦粒灸联合针刺; 对照组35例, 治疗上给予单纯针刺。观察组中, 男19例, 女16例, 年龄42-80岁, 平均年龄57.6岁 \pm 12.5岁, CFC病史3-15年, 平均病史9.2年 \pm 1.7年。其中慢传输型便秘3例, 出口梗阻型便秘17例, 混合型便秘10例; 对照组中, 男20例, 女15例, 年龄39-80岁, 平均年龄57.3岁 \pm 12.2岁, CFC病史2-13年, 平均病史9.1年 \pm 1.6年。其中慢传输型便秘5例, 出口梗阻型便秘16例, 混合型便秘19例。对2组患者性别、年龄、病史等资料进行统计学分析, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 有可比性。诊断标准^[4]: 参考2005年颁布的《我国慢性便秘的诊治指南》中相关诊断标准: (1)发病半年以上且最近3 mo内有发作。在符合该条件的基础上包含以下2个或2个以上的症状: 25%排便有过努挣, 25%排便为硬粪块, 25%排便有不完全排空感, 25%的排便有肛门直肠阻塞感, 25%排便需手助排便, 每周排便 <3 次; (2)不服用泻药, 软粪便较少; (3)排除肠易激综合征。纳入标准^[3]: (1)CFC病史 ≥ 6 mo, 近3 mo有过发作; (2)年龄 ≥ 18 岁, ≤ 80 岁; (3)能配合治疗, 完整疗程者。排除标准^[5]: (1)经检测有肠道器质性病变者; (2)有严重高血压、糖尿病、冠心病及其他心脑血管并发症者; (3)孕妇及哺乳期妇女; (4)不配合治疗或有精神疾患者。

1.2 方法

1.2.1 治疗: (1)单纯针刺组: CFC治疗穴位选择大横、天枢、关元、上巨虚、三阴交等。治疗时患者取仰卧位, 针灸部位用酒精消毒。选择合适长度的针具进行针刺, 所有穴位均采用平补平泻, 将D6805电针仪的两组电极各连接于双侧天枢、上巨虚, 设置为疏密波, 强度以患者能耐受为宜。针刺治疗每日1次, 每次30 min; (2)麦粒灸结合针刺组: 针刺方案同单纯针刺组。针刺治疗完成后, 将适量精艾绒, 制成麦粒大小的艾炷。将艾炷置于患者的气海、足三里, 点燃艾顶, 缓慢燃烧。麦粒灸过程中密切观察患者的感觉与皮肤, 当患者感觉穴位局部皮肤有灼烧感, 即可将残余艾炷取出, 放上新的艾炷。治疗每日1次, 每穴每次7壮艾炷。2组患者均为1疗程10 d, 2个疗程后观察疗效。

1.2.2 疗效评定: (1)痊愈: 排便正常, 主要症状消

表 1 2组疗效比较 ($n = 35$)

分组	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	4	11	13	7	80.0 ^a
对照组	2	8	8	17	51.43

^a $P < 0.05$ vs 对照组.表 2 2组患者治疗前后排便方式比较 $n(\%)$

分组	时间	自主排便	无法自主排便		
			依赖泻药	手法帮助	灌肠
观察组	治疗前	8(22.86)	28(80.0)	3(8.57)	1(2.86)
	治疗后	26(74.29) ^a	7(20.0) ^c	1(2.86)	1(2.86)
对照组	治疗前	7(20.0)	29(82.86)	2(5.71)	2(5.71)
	治疗后	16(45.71)	16(45.71)	2(5.71)	1(2.86)

 $\chi^2 = 5.95$, ^a $P = 0.015$ vs 对照组; $\chi^2 = 5.25$, ^c $P = 0.022$ vs 对照组.

失,便秘临床症状评分为0; (2)显效: 排便及主要症状较前改善,便秘临床症状评分较前降低2/3; (3)有效: 排便及主要症状较前改善,便秘临床症状评分较前降低1/2-2/3; (4)无效: 排便及主要症状无改善,便秘临床症状评分无降低^[6].

1.2.3 观察指标: (1)观察治疗前后2组患者自主排便、依赖药物排便例数; (2)便秘临床症状评分: 主要包含自主排便、自行排便频率、排便费力程度、每次排便时间、便质、便意感、腹胀、腹痛、排便不尽感、肛门梗阻感、肛门坠胀感、排气不畅感等,所有观察项目评分0-3分,总分36分^[7].

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析,计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,计数资料用百分率表示,组间计量资料比较采用两样本 t 检验,组间计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 2组疗效比较 经过2个疗程治疗,观察组治疗总有效率为80.0%,高于对照组51.43%($\chi^2 = 6.34$, $P = 0.011$,表1).

2.2 2组患者治疗前后排便方式比较 治疗前,2组患者自主排便比例分别为22.86%、20.0%,无法自主排便患者中,以依赖泻药者最多,2组分别为80.0%、82.86%.上述资料治疗前差异比较无统计学意义($P > 0.05$).治疗后,观察组自主排便、依赖泻药者比例分别为74.29%、20.0%,对

照组则为45.71%、45.71%,两组资料差异有统计学意义($P < 0.05$,表2).

2.3 2组患者治疗前后便秘症状积分比较 治疗前,2组便秘症状积分差异无统计学意义.治疗后,观察组排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感等得分均低于对照组($P < 0.05$)(表3).

3 讨论

CFC属于临床常见疾病,目前的临床研究认为其可能与以下几个方面因素有关: (1)肠道器质性疾病: 临床研究发现^[8],造成CFC常见的肠道器质性病变有肠道肿瘤、肠粘连以及胃肠道炎症等,均作为病理性CFC发生的危险因素.此外,在一些痔疮、肛裂患者中,CFC的发病率亦较高.但该类患者,往往由于排便过程中发生疼痛,长期忍便不排引发,是心理性CFC发生的危险因素; (2)肠道外器质性疾病: 临床常见腹腔肿瘤压迫肠道,造成CFC.此外,门静脉高压以及心衰,均能够引发CFC; (3)药物性因素: 一些药物是引发CFC较为常见的原因.有研究显示^[9],胆碱性药物、阿片类药物及含钙和铝的制剂、铋剂、抗抑郁药以及神经节阻滞剂等都能够造成CFC的发生; (4)肠蠕动减慢: 常见于长期卧床者以及活动较少的老年人中.由于肠蠕动减慢,造成粪块干硬难排,最终引发CFC.目前,西医治疗CFC主要分为药物治疗、生物反馈治疗以及手术治疗3类.由于条件的限制,目前我国生物反馈治

■ 相关报道

现代研究表明,麦粒灸是以短暂的灼热、灼痛感觉与持续的穴位炎性反应为其特殊的刺激形式.有实验研究发现,通过灼热局部皮肤,可以造成局部区域的小血管出现扩张,并引起小血管通透性增加,细胞吞噬的能力得到加强.

■应用要点

目前,麦粒灸已在临床广泛应用,皮肤科、消化科、呼吸科、心脑血管科等均可见较多的应用报道。

表 3 2组患者治疗前后便秘症状积分比较 (n , mean \pm SD)

分组	自主 排便	自行排 便频率	排便费 力程度	每次排 便时间	便质	便意感	腹胀	腹痛	排便不 尽感	肛门梗 阻感	肛门坠 胀感	排气不 畅感	总分
观察组													
治疗前	2.33 \pm 1.24	3.29 \pm 1.27	1.63 \pm 0.70	1.68 \pm 1.18	1.75 \pm 1.22	0.43 \pm 0.38	1.31 \pm 0.97	0.58 \pm 0.47	1.81 \pm 1.00	1.49 \pm 0.95	0.88 \pm 0.66	0.61 \pm 0.53	17.89 \pm 4.30
治疗后	1.15 \pm 1.03	1.68 \pm 1.53	0.75 \pm 0.72	0.42 \pm 0.29	0.60 \pm 0.37	0.07 \pm 0.06	0.61 \pm 0.42	0.15 \pm 0.11	0.77 \pm 0.50	0.77 \pm 0.69	0.50 \pm 0.44	0.19 \pm 0.18	7.81 \pm 6.66
对照组													
治疗前	2.31 \pm 1.22	3.31 \pm 1.41	1.62 \pm 0.53	1.72 \pm 1.34	1.42 \pm 1.23	0.42 \pm 0.49	1.39 \pm 1.01	0.63 \pm 0.51	1.77 \pm 1.01	1.43 \pm 1.02	1.02 \pm 0.93	0.69 \pm 0.53	18.02 \pm 5.31
治疗后	1.61 \pm 1.48	2.31 \pm 1.82	1.19 \pm 0.54	0.97 \pm 0.83	0.57 \pm 0.45	0.09 \pm 0.14	0.88 \pm 0.73	0.42 \pm 0.39	1.14 \pm 0.79	1.13 \pm 0.88	0.61 \pm 0.59	0.60 \pm 0.41	12.22 \pm 6.03
t 值	1.46	1.57	2.89	3.70	0.30	0.78	1.90	3.94	2.34	1.90	0.88	5.42	2.90
P 值	0.074	0.061	0.002	0.000	0.381	0.220	0.031	0.000	0.011	0.031	0.190	0.000	0.002

t 值与 P 值均为2组治疗后数据比较。

疗尚无法广泛应用。而CFC患者,往往不会接受手术治疗。因此,药物治疗就成为治疗的首选。当前临床上用于治疗CFC采用的药物可分为促胃肠道促动力剂、泻剂2类,虽然上述治疗CFC的效果较好,能够短时间内让患者排便,但是一旦停药,患者往往再次出现长时间的无排便状态^[10]。此外,临床研究还发现,长期使用泻剂,容易引发泻剂性肠病^[11]。因此,找到一种安全、可靠、疗效好的治疗方法,就成为目前CFC研究的热点。

针灸是我国传统医学的一门学科,临床上广泛应用于各级别的治疗。我院在临床治疗CFC中,我们将天枢、大横、关元、上巨虚、三阴交等作为治疗的主穴。其中,天枢是手阳明大肠经的募穴,属于腑气之所通,又为气机运行之枢机。选择天枢进行针刺,可以通腑行气、通便导滞。此外,天枢配合下合穴上巨虚,更可合治内腑,加强通调大肠腑气的能力。关元作为补益要穴,针刺后可培补元气、益气补肾,达到综合治疗的目的。

麦粒灸属于灸法中的直接灸,是让艾柱与患者的皮肤直接接触,通过点燃艾柱,让热量直接传输进穴位的一种治疗方式^[12]。现代研究表明^[13],麦粒灸是以短暂的灼热、灼痛感觉与持续的穴位炎性反应为其特殊的刺激形式。有实验研究发现^[14,15],通过灼热局部皮肤,可以造成局部区域的小血管出现扩张,并引起小血管通透性增加,细胞吞噬的能力得到加强。目前,麦粒灸已在临床广泛应用,皮肤科、消化科、呼吸科、

心脑血管科等均可见较多的应用报道。

本研究将麦粒灸联合针刺作为CFC的治疗方案,同单纯针刺治疗CFC进行了疗效学与相关症状的观察。首先,通过2个疗程的治疗,可以发现观察组治疗总有效率达到80.0%,高于对照组的51.43%。提示麦粒灸与针刺合用,可以提高单纯针刺的疗效。而对比治疗前后排便方式,可以发现,无论是观察组还是对照组,均能够增加CFC自主排便率,降低泻剂依赖率。但观察组治疗后自主排便率(74.29%)与依赖泻剂率(20.0%),相比较对照组的45.71%、45.71%,优势更为显著。上述结果显示,针灸联合治疗是目前除药物外,疗效较为可靠的一种治疗方式。针灸治疗,是通过调节患者自身内环境达到治疗的目的。相对于药物治疗,其不存在药物并发症。另外,我们对治疗前后2组便秘临床积分进行了统计与分析。可以发现,治疗后2组便秘临床积分均较治疗前有了一定的下降。对2组资料进行治疗后的组间比较,可以发现,观察组在改善CFC患者排便费力程度、排便时间、腹痛、排气不畅、排便不尽感、肛门梗阻感等方面,要优于对照组。该结果提示,麦粒灸联合针刺,不但可以提高治疗疗效,还可以改善患者的临床症状,属于综合性治疗。

总之,麦粒灸合针刺治疗CFC,疗效优于单纯针刺,能显著改善CFC患者各项临床症状。

4 参考文献

- 1 巫秀义, 张栋梁, 付亚平, 孙雪琴, 陆明仙. 针灸治疗功能性便秘临床研究. 长春中医药大学学报 2012; 8:

- 793-794
- 2 尹平, 徐世芬, 朱博畅, 吴君怡. 穴位埋线治疗功能性便秘51例. 河北中医 2012; 34: 563-564
- 3 蒙珊, 吕计宝, 徐崑. 穴位埋线结合中药敷脐干预功能性便秘38例疗效观察. 河北中医 2011; 33: 1518-1520
- 4 雒福东, 代述东, 何涛, 唐学贵. 慢性功能性便秘中医临床研究. 长春中医药大学学报 2012; 28: 1041-1043
- 5 金洵, 丁曙晴, 丁义江, 王玲玲, 张华, 王丽雯, 刘妮妮, 王静, 曹建葆. 慢性便秘患者报告临床结局评估量表的性能评价和分值意义判定. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1360-1365
- 6 何洪波, 李宁, 王成伟, 吕建琴. 电针“天枢穴”不同深度刺激对慢传输型功能性便秘患者结肠转运时间的影响. 针灸临床杂志 2011; 27: 11-13
- 7 吴霜, 孙桂东, 陈玉根, 吴本升, 杨柏霖. 促结肠动力药物治疗慢性便秘的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 434-439
- 8 余卫华, 符文彬, 战晓农, 邱翠琼. 电温灸器治疗慢性功能性便秘的临床观察. 中国老年学杂志 2009; 29: 1556-1556
- 9 梁谊深, 谢胜, 冯金娟. 针刺结合穴位注射治疗功能性便秘. 针灸临床杂志 2010; 26: 29-30
- 10 任驰, 周思远, 牟建蛟, 李瑛. 针刺对功能性便秘ENS-ICC调节机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1758-1762
- 11 王成伟, 何洪波, 李宁, 文谦, 刘志顺. 电针深刺天枢穴治疗功能性便秘随机对照研究. 中国针灸 2010; 30: 705-708
- 12 杨德莉, 刘志顺. 深刺天枢治疗功能性便秘疗效观察. 北京中医药 2010; 29: 366-368
- 13 耿涛, 林容枝. 深刺天枢穴治疗慢性功能性便秘的临床疗效观察. 浙江中医药大学学报 2011; 35: 263-265
- 14 蔡玉梅, 郑继范, 黄文燕. 麦粒灸的临床应用和实验研究进展. 针灸临床杂志 2008; 24: 61-62
- 15 王曙辉, 许明珠, 崔韶阳, 吴云天, 陈露华. 早期井穴麦粒灸结合Bobath治疗技术对脑梗死患者上肢功能的影响. 中国康复医学杂志 2011; 26: 770-772

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 对临床医师具有一定参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例

刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波

■背景资料

过敏性紫癜是一种较常见的毛细血管变态反应性疾病, 可能与血管的自体免疫损伤有关。临床上可根据临床表现将本病分为皮肤型(单纯紫癜型)、腹型(Schoulein型)、关节型(Henoch型)、肾型、混合型, 多见于儿童及青少年。以腹痛、便血、呕吐为首发表现的成人腹型过敏性紫癜少见, 由于临床表现缺乏特异性及具有隐匿性, 早期很难作出诊断, 选择合适的诊断方法对早期有效治疗有一定意义。

刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波, 萍乡市人民医院消化内科 江西省萍乡市 337000

刘立玺, 主治医师, 主要从事炎症性肠病及消化系早期肿瘤的内镜下诊断与治疗。

作者贡献分布: 本文由刘立玺、朱方擎及林浩负责收集资料与论文撰写; 文萍与文剑波负责审核。

通讯作者: 文剑波, 主任医师, 337000, 江西省萍乡市安源区广场路128号, 萍乡市人民医院消化内科。wenjbpx@126.com

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-06

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-18

Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases

Li-Xi Liu, Fang-Qin Zhu, Hao Lin, Ping Wen, Jian-Bo Wen

Li-Xi Liu, Fang-Qin Zhu, Hao Lin, Ping Wen, Jian-Bo Wen, Department of Gastroenterology, Ping Xiang People's Hospital, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Jian-Bo Wen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Ping Xiang People's Hospital, 128 Guangchang Road, Anyuan District, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China. wenjbpx@126.com

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-06

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-18

Abstract

AIM: To summarize the clinical and endoscopic features of abdominal type allergic purpura in adult patients.

METHODS: Clinical and endoscopic data for 26 adult patients with abdominal type allergic purpura were analyzed retrospectively.

RESULTS: All patients had abdominal pain, and 13 patients had digestive tract hemorrhage. Endoscopy revealed hyperaemia, edema, bleeding spots, erosion and ulcer in the gastrointestinal mucosa. Severe mucosal lesions were often found in the duodenum, ileum and caecum.

CONCLUSION: Gastrointestinal endoscopy is helpful for early diagnosis of adult abdominal type allergic purpura.

■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Abdominal type allergic purpura; Clinic manifestations; Endoscopy

Liu LX, Zhu FQ, Lin H, Wen P, Wen JB. Clinical manifestations and endoscopic characteristics of adult abdominal type allergic purpura: An analysis of 26 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2364-2366 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2364>

摘要

目的: 总结成人腹型过敏性紫癜的临床表现、内镜下改变, 为该病早期诊断提供依据。

方法: 回顾性分析2000-01/2012-12我院收治的26例腹型过敏性紫癜的临床表现及内镜资料。

结果: 26例患者均有腹痛, 消化道出血13例, 内镜检查可见胃肠黏膜充血水肿、出血点、糜烂、溃疡, 以十二指肠、回肠末段为主。

结论: 胃肠镜有助于腹型过敏性紫癜的早期诊断。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹型过敏性紫癜; 临床表现; 内镜检查

核心提示: 本文回顾性分析腹型过敏性紫癜(henoch-schoulein purpura)的临床表现及内镜资料, 为早期诊断过敏性紫癜提供经验借鉴。

刘立玺, 朱方擎, 林浩, 文萍, 文剑波. 成人腹型过敏性紫癜临床表现及内镜特点分析26例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2364-2366 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i23.2364>

0 引言

过敏性紫癜(henoch-schoulein purpura, HSP)又称出血性毛细血管中毒症, 是一种较常见的毛细血管变态反应性疾病, 可能与血管的自体免疫损伤有关。临床上可根据临床表现将本病分为皮肤型(单纯紫癜型)、腹型(Schoulein型)、关节

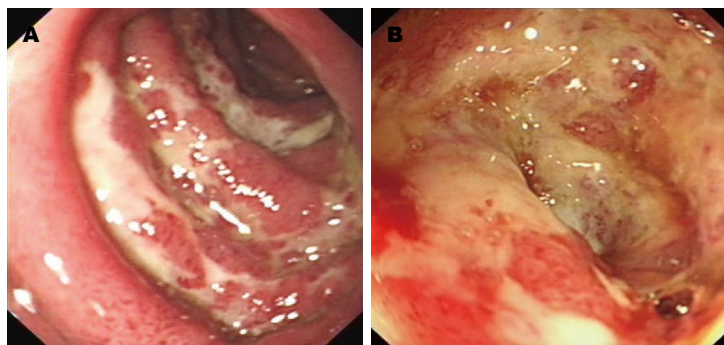


图 1 腹型过敏性紫癜治疗前内镜下表现. A: 十二指肠降部可见环形浅溃疡, 表覆黄白色苔; B: (回肠末端)可见不规则深大溃疡, 肠腔狭窄.

■应用要点
及时胃肠镜检查
有助于腹型过敏性紫癜的诊断.

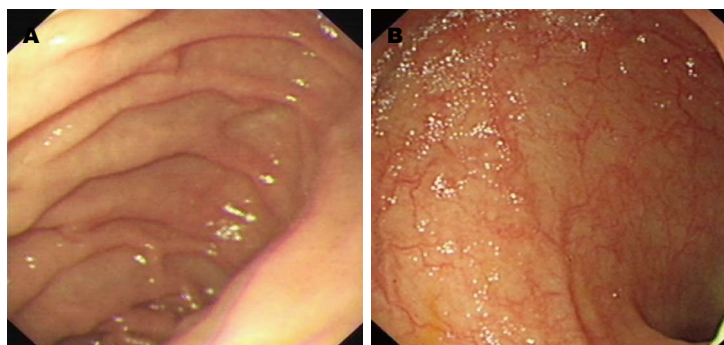


图 2 腹型过敏性紫癜治疗后内镜下表现. A: 十二指肠降部黏膜光滑; B: 回肠末端黏膜光滑.

型(Henoch型)、肾型、混合型, 多见于儿童及青少年^[1]. 以腹痛、便血、呕吐为首表现的成人腹型过敏性紫癜少见, 由于临床表现缺乏特异性及具有隐匿性, 早期很难作出诊断, 很易误诊误治^[2]. 本文探讨其临床表现及内镜下特点, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2000-01/2012-12在我科收治腹型过敏性紫癜26例. 其中男16例, 女10例, 18-73岁, 平均年龄43.8岁. HSP的诊断依据为: (1)典型四肢皮肤紫癜, 可伴有腹痛等消化道症状、关节痛和/或血尿; (2)血小板计数、功能及凝血功能正常; (3)排除其他原因所致之血管炎及紫癜^[3].

1.2 方法 所有患者入院后均检查血常规、尿常规、大便常规及潜血试验、凝血功能及血尿淀粉酶. 观察这26例患者的临床资料、实验室检查及内镜资料. 部分患者根据病情特点行腹部立卧位片、腹部B超或CT及胃肠镜检查.

2 结果

临床特点: 诱因: 有上呼吸道感染病史8例(30.7%), 食用海鲜产品3例(11.5%), 服用非甾体抗炎药2例(7.6%), 疫苗接种1例(3.8%). 26例HSP均存在腹痛, 腹痛部位可涉及腹部任何部位, 伴压痛, 反跳痛少见. 腹痛的程度可类似任何急腹症, 同时16例伴有呕吐(61.5%), 出现2例呕血

(7.6%), 血便11例(42.3%), 表现为暗红色及柏油样大便, 所有病例均在3-10 d出现双下肢皮肤出现对称性小型荨麻疹或出血性皮疹. 26例腹型HSP入院时误诊19例. 误诊率73.1%, 其中误诊消化性溃疡病并出血5例, 急性阑尾炎6例, 急性肠梗阻、缺血性肠病各3例, Crohn病2例.

实验室检查: 其中大便潜血阳性13例(50%), 血尿淀粉酶升高6例(23.1%), 且腹部B超及上腹部CT未见胰腺炎表现. 14例(53.8%)尿常规有改变: 红细胞、隐血试验阳性和/或尿蛋白阳性, 血小板及凝血功能均正常, 21例(80.8%)血常规白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/L$, 3例患者腹部平片示液气平面.

内镜表现: 26例腹型HSP分别进行了31例次内镜检查, 其中胃镜有18例, 肠镜检查13例, 有5例患者同时接受了胃肠镜检查. 内镜下病变主要表现为: 黏膜弥漫性充血水肿、点状出血、糜烂、溃疡. 常多发, 在胃和十二指肠多为浅溃疡, 十二指肠降部溃疡沿皱襞环形分布, 呈霜斑样(图1A), 回肠末端溃疡深大, 可出现肠腔狭窄(图1B).

病理特点: 接受内镜检查的患者行黏膜活检病理组织学检查, 组织学显示为非特异性炎症细胞浸润.

治疗与转归: 26例患者中入院时均予以质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、解痉剂、抗生素等治疗, 效果均不佳, 待紫癜样皮疹出现后确诊HSP, 给予糖皮质激素及抗过敏药物后, 症状明显缓解, 胃肠镜复查结果较治疗前有明显好转(图2).

■名词解释

腹型过敏性紫癜: 过敏性紫癜以胃肠道的病理改变突出时称为腹型过敏性紫癜, 临床表现为腹痛、消化道出血、恶心、呕吐, 内镜下表现为弥漫性充血水肿、出血、糜烂、溃疡, 全消化道均可受累, 十二指肠降部和回肠病变要重于胃和结肠, 糖皮质激素治疗有较好效果。

3 讨论

过敏性紫癜是一种血管变态反应性出血性疾病, 是由微生物、药物、食物、花粉、蛔虫等引起的免疫复合物变态反应性毛细血管炎症所致疾病。主要机制是通过毛细血管脆性及通透性增加, 从而造成血液外渗, 产生紫癜、黏膜甚至某些脏器出血。临床上以非血小板减少性紫斑、关节炎或关节痛、腹痛、胃肠道出血及肾炎为主要表现。HSP以胃肠道的病理改变突出时称为腹型HSP。腹型HSP临床表现不典型, 常延误诊治^[4], 甚至导致不必要的外科手术, 皮肤紫癜是诊断HSP必要条件。但腹型HSP在皮疹出现晚于腹部症状时, 早期很难做出诊断。本组病例26例腹型HSP入院时误诊19例, 误诊率73.1%, 高于文献报道60.0%^[5], 可能与对此病认识不够有关。

过敏性紫癜缺乏相关的实验室检查, 大多数束臂试验阳性, 血小板计数有助于与血小板减少性紫癜相鉴别。本组病例23.1%的患者血尿淀粉酶升高, 可能与胰腺的小血管炎, 使小动脉和毛细血管的通透性增加, 从而发生炎性渗出、水肿及出血, 出现继发性改变有关^[6]。

HSP内镜的特征性表现包括黏膜弥漫性充血水肿、出血、糜烂、溃疡, 这在以往的研究中有所报道^[7-10]。糜烂和溃疡多沿黏膜皱襞环形分布, 与肠管的血管走行相符, 提示病变为血管源性。虽然全消化道均可受累, 但是病变以小肠为重^[11], 十二指肠降部和回肠病变要重于胃和结肠, 重症患者可以出现小肠坏死、穿孔^[12,13]。

本组患者进行内镜检查时均于病变部位进行组织学检查, 结果均为非特异性炎性细胞浸润。并未见到过敏性紫癜所特有的白细胞破碎性血管炎, 原因不清楚, 可能与取材的深度及病理科医师认识不够有关。文献报道免疫组织化学示IgA在胃肠道黏膜毛细血管的沉积。对临床诊断起到重要的作用^[14]。

过敏性紫癜单纯使用抑酸剂、黏膜保护及解痉剂, 治疗效果不佳, 一旦确诊HSP, 应立即使用肾上腺皮质激素, 可以迅速缓解腹痛、消化道出血症状^[15]。为了最大限度降低误诊率, 作为临床医生, 首先应了解本病临床特点, 其次应有宽广的思维, 对诊断不明的腹痛、便血患者应想到过敏性紫癜的可能, 尽快完善内镜检查, 以

利于早期诊断及治疗。

4 参考文献

- 1 陈灏珠, 林果为. 实用内科学. 第13版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 2586-2588
- 2 Choong CK, Beasley SW. Intra-abdominal manifestations of Henoch-Schönlein purpura. *J Paediatr Child Health* 1998; 34: 405-409 [PMID: 9767498 DOI: 10.1046/j.1440-1754.1998.00263.x]
- 3 贝政平. 皮肤科疾病诊断标准. 第2版. 北京: 科学出版社, 2007: 366
- 4 宋继中, 王巧民, 丁西平, 张明黎, 盛园. 成人过敏性紫癜内镜表现及临床特点. *中国内镜杂志* 2011; 17: 386-391
- 5 白顺滢, 彭燕, 肖思洁, 黎启菊, 刘晓臣. 腹型过敏性紫癜的内镜特征. *中华消化内镜杂志* 2008; 2: 98-100
- 6 徐秀英, 王爱瑶, 林俊萍, 王丹宁. 以急性胰腺炎为首发表现的过敏性紫癜临床特点分析. *中国实用内科杂志* 2007; 27: 773-774
- 7 任万英, 李华, 赵丽婷. 内镜下过敏性紫癜胃、肠黏膜病变特点分析. *武警医学院学报* 2001; 10: 223-224
- 8 Esaki M, Matsumoto T, Nakamura S, Kawasaki M, Iwai K, Hirakawa K, Tarumi K, Yao T, Iida M. GI involvement in Henoch-Schönlein purpura. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 920-923 [PMID: 12447314 DOI: 10.1016/S0016-5107(02)70376-3]
- 9 Kato S, Shibuya H, Naganuma H, Nakagawa H. Gastrointestinal endoscopy in Henoch-Schönlein purpura. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 482-484 [PMID: 1396906 DOI: 10.1007/BF01957748]
- 10 Gunasekaran TS, Berman J, Gonzalez M. Duodenitis: is it idiopathic or is it Henoch-Schönlein purpura without the purpura? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 22-28 [PMID: 10630435 DOI: 10.1097/00005176-200001000-00013]
- 11 Hokama A, Kishimoto K, Ihama Y, Kobashigawa C, Nakamoto M, Hirata T, Kinjo N, Higa F, Tateyama M, Kinjo F, Iseki K, Kato S, Fujita J. Endoscopic and radiographic features of gastrointestinal involvement in vasculitis. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 50-56 [PMID: 22442741 DOI: 10.4253/wjge.v4.i3.50]
- 12 Minitier U, Bae-Harboe YS, Powers JG, Campbell SM, Goldberg LJ. Fatal Henoch-Schönlein purpura in an adult related to bowel perforation: report and review of the literature. *Dermatol Online J* 2012; 18: 9 [PMID: 23122016]
- 13 Passam FH, Diamantis ID, Perisinaki G, Saridakis Z, Kritikos H, Georgopoulos D, Boumpas DT. Intestinal ischemia as the first manifestation of vasculitis. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 34: 431-441 [PMID: 15305242 DOI: 10.1016/j.semarthrit.2003.12.004]
- 14 Kato S, Ozawa K, Ando N, Naganuma H, Iinuma K, Nagura H. Immunoglobulin A enteropathy: a possible variant of Henoch-Schönlein purpura. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1777-1781 [PMID: 15628702 DOI: 10.1007/s10620-004-9569-0]
- 15 Weiss PF, Klink AJ, Localio R, Hall M, Hexem K, Burnham JM, Keren R, Feudtner C. Corticosteroids may improve clinical outcomes during hospitalization for Henoch-Schönlein purpura. *Pediatrics* 2010; 126: 674-681 [PMID: 20855386 DOI: 10.1542/peds.2009-3348]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文立意较好, 回顾研究临床少见病的胃肠镜表现, 有很好的临床参考价值, 对急腹症的鉴别诊断有较大的帮助。

食管结石2例

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧, 山东省青岛市市立医院消化内科 山东省青岛市 266000

张鸣鸣, 硕士, 住院医师, 主要从事功能性胃肠病的研究.

作者贡献分布: 本文由张鸣鸣完成; 由姜大磊、李文利及吕梅修改; 战淑慧负责审核.

通讯作者: 战淑慧, 教授, 主任医师, 266000, 山东省青岛市市北区胶州路1号, 青岛市市立医院消化内科.

zhandoctor@126.com

电话: 0532-82789580

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-06-11

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-18

Esophageal calculus: Report of two cases

Ming-Ming Zhang, Da-Lei Jiang, Wen-Li Li, Mei Lv, Shu-Hui Zhan

Ming-Ming Zhang, Da-Lei Jiang, Wen-Li Li, Mei Lv, Shu-Hui Zhan, Department of Gastroenterology (Division I), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Correspondence to: Shu-Hui Zhan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology (Division I), Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266000, Shandong Province, China. zhandoctor@126.com

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-06-11

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-18

Abstract

Esophageal calculus is a rare clinical entity that is easily misdiagnosed or overlooked. It can induce severe complications such as hemorrhage and perforation. The symptoms of esophageal calculus are not specific, and substernal pain and dysphagia are common clinical manifestations. Gastroscopy is the preferred diagnostic modality, and endoscopic lithotripsy is the optimal treatment. Underlying diseases, such as esophageal achalasia, are common in patients with esophageal calculus, which may be related to emptying delay and food retention.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Calculus; Esophagus

Zhang MM, Jiang DL, Li WL, Lv M, Zhan SH. Esophageal calculus: Report of two cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(23): 2367-2368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2367.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2367>

摘要

食管结石在临床上较为少见, 容易引起误诊、漏诊, 如得不到及时救治, 可引起消化系出血或穿孔等严重并发症. 食管结石症状无特异性, 常表现为胸骨后疼痛不适, 吞咽困难. 内镜为诊断食管结石的最佳方法, 内镜下碎石术也是其最佳治疗方法. 食管结石的形成多伴有食管的基础疾病, 常见合并贲门失迟缓症, 考虑与食管排空障碍, 长期食物潴留相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管; 结石

核心提示: 食管内呈低酸环境, 我们认为食管结石的成因为食管内容物排空障碍, 长期的食物潴留导致难以分解的植物纤维及蛋白质等成分相互混合形成结石. 所以对于合并有食管憩室、贲门失迟缓症、食管狭窄的患者应警惕该病可能.

张鸣鸣, 姜大磊, 李文利, 吕梅, 战淑慧. 食管结石2例. 世界华人消化杂志 2013; 21(23): 2367-2368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2367.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i23.2367>

0 引言

临床上常见的消化系统结石多为植物性胃石, 主要与进食山楂、柿子、黑枣、石榴等鞣酸含量高的食物有关, 其形成也多与胃酸的作用相关. 食管的植物性结石临床上较为少见, 原因可能是食物较少存留于食管, 且食管内为低酸环境, 但对于能够引起食物残留于食管的疾病如: 食管憩室、贲门失迟缓症、食管狭窄等疾病可导致植物性结石的形成. 现就我院近期收治的2例食管植物性结石作如下报告.

1 病例报告

病例1: 67岁女性, 因“进食后梗阻感伴恶心、呕吐20 d”入院. 患者曾于1 mo前进食山楂, 20 d来进食后梗阻感进行性加重, 后期出现进食困难, 伴恶心、呕吐, 呕吐物为食物及水, 无鲜血及咖啡样液体, 2004年因贲门失迟缓症行内镜

■背景资料

消化道结石以胃石症较为常见, 食管结石临床上少见, 而食管结石的发病多伴有食管的基础疾病, 如贲门失迟缓症、食管憩室、食管狭窄等, 临床医生应提高对本病认识.

■同行评议者

甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

■同行评价

食管结石临床上较少见, 该报道对临床有一定的指导意义。

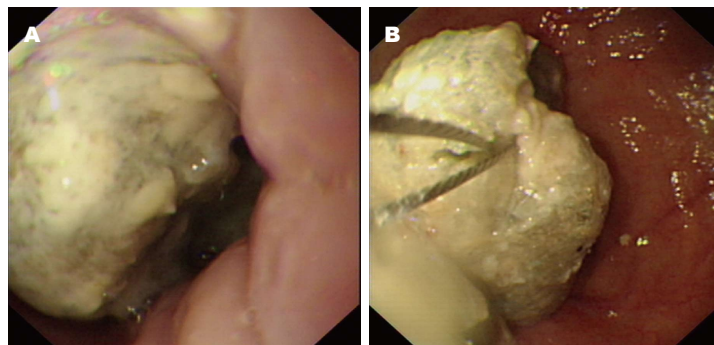


图1 食管结石. A: 病例1; B: 病例2.

下扩张术治疗, 术后未再出现吞咽困难, 既往有慢性支气管炎及宫颈癌病史. 查体无明显阳性体征. 2013-02-05于我院行胃镜检查示: 食管结石(图1A)贲门失迟缓症, 予以内镜下碎石及口服碳酸氢钠治疗后好转.

病例2: 52岁女性, 因“反复上腹痛伴进食哽咽感19年, 加重10 d”入院. 患者19年前诊断为贲门失迟缓, 3年前曾因进食山楂出现食管结石, 10 d前患者进食山楂后再次感症状加重而就诊. 既往体健. 查体无明显阳性体征. 患者2013-01-12于我院行胃镜检查示: 食管结石(图1B)贲门失迟缓症. 行内镜下碎石术及口服碳酸氢钠及对症治疗后好转出院.

2 讨论

消化系结石目前并不少见, 但是食管结石较为罕见. 消化系结石以胃石多发, 根据组成不同分为植物性结石、毛发性结石、乳酸石及混合型结石4种, 其中以植物性胃石最为常见. 目前多数学者认为进食柿子、山楂、黑枣等植物形成胃石的原因主要在于这些食物中含有鞣酸, 鞣酸在胃酸的作用下能与蛋白质结合形成不溶于水的鞣酸蛋白, 鞣酸蛋白与树胶、果皮以及其他胃内食物黏合在一起形成团块, 而这些团块还可以互相黏着积聚成巨大的质地坚硬的胃石, 这些与胃腔的高酸环境有关^[1]. 此外有观点认为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染通过引起胃酸分泌异常、影响胃肠运动而促进胃石的形成^[2]. 此2例患者均为食管结石, 食管内为低酸环境, 且*H. pylori*对于食管的影响较小, 且此2例患者均合并有贲门失弛缓症, 所以我们

考虑在该2例食管结石的发病中, 胃酸不占主导地位. 对于结石的成因, 我们认为是食管下端括约肌张力增高导致食管内容物排空障碍, 长期的食物滞留导致难以分解的植物纤维及蛋白质等成分相互混合, 加之山楂中的鞣酸, 形成了质地较为坚硬的结石. 食管结石容易漏诊、误诊, 而误诊的原因见于只进行了消化道造影, 而未行内镜检查^[3]. 因而对于症状不典型的患者, 应仔细询问病史, 有无食管基础疾病, 有无进食山楂、黑枣、柿子等易于形成结石的食物, 尤其对于老年患者, 并且应警惕合并有肿瘤的报警症状. 对于病情允许者应早期行胃镜检查以明确诊断, 及时发现结石, 以防止严重的并发症出现. 内镜下诊断食管结石合并有食管黏膜损伤者, 应取病理检查以除外是否合并食管癌, 并且应在治疗后及时复查. 食管结石的治疗以内镜下碎石术为主, 并且可以应用食管黏膜保护剂和碳酸氢钠, 以减少食管的损伤, 缩短病程. 对于有严重并发症的患者, 例如结石嵌顿导致的梗阻、穿孔或者合并食管癌者, 应及时手术治疗. 如患者合并有食管的基础疾病, 如: 贲门失弛缓症、食管炎等导致的食管排空障碍, 应积极治疗原发病, 避免食用易导致消化系结石的食物.

3 参考文献

- 1 萧树东, 江绍基. 胃肠病学. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 800-801
- 2 张贺军, 崔荣丽, 金珠. 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1714-1716
- 3 刘小雄, 熊汉鹏. 食管结石症误诊1例报告. 中国医师杂志 2006; 8: 1292

编辑 田滢 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白玉作 教授
中国医科大学附属盛京医院小儿外科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

迟宝荣 教授
吉林大学第一医院消化内科

甘华田 教授
四川大学华西医院老年消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李志霞 教授
首都医科大学附属北京同仁医院普外科

林潮双 副教授
中山大学附属第三医院感染科

刘亮明 副教授
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

陆云飞 教授
广西医科大学第一附属医院

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

邵华 副主任药师
东南大学附属中大医院药剂科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆外科西区

孙星 副教授
上海交通大学附属第一人民医院普外科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王俊平 教授
山西省人民医院消化科

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

王书奎 教授
南京医科大学附属南京医院科教处

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

王学美 研究员
北京大学第一医院中西医结合研究室

许文燮 教授
上海交通大学基础医学院, 病理、生理与病理生理学系

姚登福 教授
南通大学附属医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张火俊 副教授
长海医院放射科

郑素军 副教授
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 8 月 28 日 第 21 卷 第 24 期 (Volume 21 Number 24)



24/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 8 月 28 日 第 21 卷 第 24 期 (总第428期)

述 评	2369 肝内外胆管扩张症的诊断思路 吕云福
临 床 研 究	2373 ER- α 36介导的胃癌中miRNA表达的研究 邹丰, 王绪明, 刘丽江 2378 血清CK18-M65、M30与非酒精性脂肪肝病的相关性 蔡雯, 宋江美, 米合日古丽·热西提, 王利芳, 郭子双, 李格, 丁燕, 姚华
文 献 综 述	2385 胃癌靶向治疗的研究进展 王李杰, 白莉, 焦顺昌 2397 HBx与肝细胞癌发病机制的研究进展 段昌虎, 邵升 2403 趋化因子受体在结直肠癌肝转移研究中的新进展 林轲羽, 宿华威 2412 藤黄酸抗肿瘤机制的研究进展 侯毅, 竺平, 陈邑岐, 朱秉宜, 谷云飞
研 究 快 报	2418 经kinectin融合蛋白刺激的人B细胞诱导效应T细胞对肝癌细胞的杀伤 何少健, 韦力嘉, 宋琮, 肖瑞雪, 晁耐霞, 陈芳, 莫发荣, 农蔚霞 2424 促肾上腺皮质激素释放因子对肠上皮细胞紧密连接相关蛋白的调节 杨丽, 郑鹏远, 刘志强 2429 姜黄素联合奥沙利铂对肠癌RKO细胞增殖的抑制和凋亡的诱导 张璐璐, 谭欣, 孙琥, 何灏澜
临 床 经 验	2434 术前肠内营养对食道狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响 路秦龙, 郑锴, 张鹏 2440 自身免疫性肝炎患者抗中性粒细胞胞质抗体谱的检测 黄新辉, 张玉红, 谭立明, 邹小健, 陈娟娟, 李华, 王外梅 2446 复方嗜酸乳杆菌治疗对早期肝硬化患者补体和T淋巴细胞亚群的影响 尚惺杰 2451 腹腔镜胆囊摘除术高低气腹压对患者血流动力学的影响 肖庆华, 杨丽, 陈荣萍, 邱卫东 2456 重症急性胰腺炎并发多器官功能障碍综合征的独立危险因素及护理对策 王立新, 高建丽, 吴贵凯, 田晓华, 高伟 2461 老年患者胃肠手术快速康复的外科护理 何颖, 王艳荣, 党玲 2466 肠易激综合征结肠镜检查中灌注CO ₂ 舒适度及安全性评价 艾永华, 陈嘉雯 2470 经鼻型肠梗阻导管在急性麻痹性肠梗阻治疗中的应用价值 康春博, 刘金洪, 李旭斌, 林大鹏, 叶博, 李小伟, 陈秀峰, 刘庆良, 张鹏, 李铎 2475 腹腔镜直肠根治术与开腹直肠癌根治术治疗直肠癌的近期疗效对比 付敬伟, 秦晓青, 储宪群, 王静, 高伟 2480 消化性溃疡患者的心理状况调查及健康教育指导对NK细胞的影响 陈力, 陈玉龙, 徐春晖, 王业忠, 席睿 2485 六盘水市行胃镜检查幽门螺旋杆菌感染的调查及防治策略 姚玉龙, 周杰, 梁辉, 胡春晔, 陈冬梅
病 例 报 告	2490 阿司匹林相关性小肠溃疡致消化系出血、巨幼细胞贫血1例 王柏清, 李甜甜, 孙光斌

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2384 《世界华人消化杂志》出版流程 2396 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 2411 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2417 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2423 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2428 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2439 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2450 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2455 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2465 《世界华人消化杂志》栏目设置 2474 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2484 《世界华人消化杂志》正文要求 2489 《世界华人消化杂志》外文字符标准
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 吕云福, 教授, 570311, 海南省海口市, 海南省人民医院普外科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-08-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

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

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

August 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 24

EDITORIAL	2369 Strategies for diagnosis of expansion of the intrahepatic or extrahepatic bile ducts <i>Lv YF</i>
CLINICAL RESEARCH	2373 Identification of miRNAs involved in ER- α 36-mediated gastric carcinogenesis <i>Zou F, Wang XM, Liu LJ</i> 2378 Association of serum CK18-M65 and -M30 with non-alcoholic fatty liver disease <i>Cai W, Song JM, Miheriguli Rexiti, Wang LF, Guo ZS, Li G, Ding Y, Yao H</i>
REVIEW	2385 The rugged road to targeted therapy for gastric cancer <i>Wang LJ, Bai L, Jiao SC</i> 2397 Role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis <i>Duan CH, Tai S</i> 2403 Progress in understanding role of chemokine receptors in liver metastases of colorectal cancer <i>Lin KY, Su HW</i> 2412 Progress in understanding mechanisms behind anti-tumor effects of gambogic acid <i>Hou Y, Zhu P, Chen YQ, Zhu BY, Gu YF</i>
RAPID COMMUNICATION	2418 Human B lymphocytes stimulated with kinectin protein induces effector T lymphocytes to kill hepatocellular carcinoma cells <i>in vitro</i> <i>He SJ, Wei LJ, Song Q, Xiao RX, Chao NX, Chen F, Mo FR, Nong WX</i> 2424 Effect of corticotropin-releasing factor on expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells <i>Yang L, Zheng PY, Liu ZQ</i> 2429 Curcumin combined with oxaliplatin inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colorectal cancer cell line RKO <i>Zhang LL, Tan X, Sun X, He HL</i>
CLINICAL PRACTICE	2434 Effect of preoperative enteral nutrition on postoperative infections and nutritional indices in esophageal cancer patients with esophageal stenosis <i>Lu QL, Zheng K, Zhang P</i> 2440 Clinical significance of detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with autoimmune hepatitis <i>Huang XH, Zhang YH, Tan LM, Zou XJ, Chen JJ, Li H, Wang WM</i> 2446 Effect of treatment with compound <i>Lactobacillus acidophilus</i> on complements and T lymphocyte subsets in patients with compensated liver cirrhosis <i>Shang XJ</i> 2451 Effect of pneumoperitoneum pressure on hemodynamic parameters in patients undergoing laparoscopic gallbladder excision <i>Xiao QH, Yang L, Chen RP, Qiu WD</i> 2456 Risk factors and nursing strategies for severe acute pancreatitis complicated with multiple organ dysfunction syndrome <i>Wang LX, Gao JL, Wu GK, Tian XH, Gao W</i> 2461 Safety of fast-track gastrointestinal surgery in elderly patients <i>He Y, Wang YR, Dang L</i> 2466 Comfort and safety of carbon dioxide-insufflating colonoscopy in patients with irritable bowel syndrome <i>Ai YH, Chen JW</i> 2470 Application of naso-intestinal decompression tubes in patients with acute paralytic intestinal obstruction <i>Kang CB, Liu JH, Li XB, Lin DP, Ye B, Li XW, Chen XF, Liu QL, Zhang P, Li D</i> 2475 Short-term effects of laparoscopic radical resection versus traditional laparotomy in management of rectal cancer <i>Fu JW, Qin XQ, Chu XQ, Wang J, Gao W</i> 2480 Psychological status of patients with peptic ulcer and impact of health education and guidance on NK cells <i>Chen L, Chen YL, Xu CH, Wang YZ, Xi R</i> 2485 Prevalence of and risk factors for <i>Helicobacter pylori</i> infection in patients who underwent gastroscopy from 2010 to 2012 in Liupanshui city <i>Yao YL, Zhou J, Liang H, Hu CH, Chen DM</i>

CASE REPOR	2490 Aspirin-associated small intestinal ulcer with severe anemia as the first manifestation: A case report <i>Wang BQ, Li TT, Sun GB</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDG- MENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Yun-Fu Lv, Professor, Department of General Surgery, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date August 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

肝内外胆管扩张症的诊断思路

吕云福

吕云福, 海南省人民医院普外科 海南省海口市 570311
吕云福, 教授, 主要从事肝胆胰疾病的研究。
通讯作者: 吕云福, 教授, 570311, 海南省海口市秀英区秀华路
19号, 海南省人民医院普外科. yunfu_lv@126.com
电话: 0898-68622072
收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-07-23
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Strategies for diagnosis of expansion of the intrahepatic or extrahepatic bile ducts

Yun-Fu Lv

Yun-Fu Lv, Department of General Surgery, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China

Correspondence to: Yun-Fu Lv, Professor, Department of General Surgery, Hainan Provincial People's Hospital, 19 Xiuhua Road, Xiuying District, Haikou 570311, Hainan Province, China. yunfu_lv@126.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

Expansion of the intrahepatic or extrahepatic bile ducts is a clinically common disease. Patients visit hospital often due to bile duct expansion (with or without self-conscious symptoms). The causes of expansion of the bile ducts are diverse: some are obvious, such as bile duct stones, parasites and tumors; and others are not clear, which makes the diagnosis and treatment of this disease is very difficult. In this paper we divide expansion of the intrahepatic or extrahepatic bile ducts into two major categories: congenital and secondary. Since there are more than 60 kinds of known causes of this disease, it can be classified based on disease type, relationship to the bile duct and bile duct pressure. The classification based on etiology can help clarify the diagnosis of this disease and thus provide a theoretical basis for its early diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Expansion of the bile ducts; Etiology classification; Diagnostic strategies

Lv YF. Strategies for diagnosis of expansion of the

intrahepatic or extrahepatic bile ducts. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(24): 2369-2372 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2369>

摘要

肝内外胆管扩张症临床上多见, 患者常因胆管扩张症(伴或不伴自觉症状)而来医院就诊, 其病因十分复杂, 有的病因显而易见, 如胆管结石、寄生虫、肿瘤等。而有的病因很不清楚, 致使诊断和处理非常棘手。本文将肝内外胆管扩张症分为先天性肝内外胆管扩张和继发性肝内外胆管扩张两大类型, 囊括了60余种病因, 后者又按疾病成因, 与胆管的关系和胆道压力进行分类。通过病因分类, 可以理清肝内外胆管扩张症的诊断思路, 为早期诊断与治疗提供理论支撑。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胆管扩张症; 病因分类; 诊断思路

核心提示: 本文针对临床上遇到的问题, 系统地总结了引起肝内外胆管扩张症的病因, 将其分为先天性和继发性两大类型, 尤其又将继发性胆总管扩张归纳为管腔内阻塞、胆管壁病变、胆管壁受压3种进行总结与叙述, 给读者展现了一个清晰的诊断思路, 为早期诊断和选择治疗提供了理论支撑。

吕云福. 肝内外胆管扩张症的诊断思路. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2369-2372 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2369>

0 引言

现代医学认为胆道是人体的一个重要器官, 而不是单纯的管道^[1], 胆管的形态是反映机体健康状态的一个重要标志, 他正常与否直接影响到肝、肾、胃、肠、心、肺等重要器官的形态和功能。成人正常胆总管直径<8 mm(新生儿<1 mm, 婴幼儿为3 mm, 儿童为5 mm), 若成人胆总管最宽处直径≥8 mm即称为胆总管扩张, 8-12 mm为轻度扩张、12-16 mm为中度扩张、16-20 mm为重度

■背景资料

肝内外胆管扩张症在临床上比较常见, 其病因复杂, 有的显而易见, 有的病因不清, 以致影响到对患者的诊断和治疗。针对这一难题, 本文通过阅读大量的文献资料, 并结合临床实践, 将其进行系统性总结与分类, 为该病的早期诊断提供了一个清晰的思路。

■同行评议者

吴泰瑞, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研究前沿

肝内外胆管扩张症可分为先天性和继发性两大类。目前,对先天性胆管扩张认识比较充分,但对继发性胆管扩张的认识零碎,缺乏系统性,因此,如何系统地探究继发性肝内外胆管扩张的病因,并将其科学地分类,便成为一个值得探讨和亟待解决的问题。

扩张、>20 mm为特重度扩张。

肝总管至左、右肝管,肝叶胆管和各肝段胆管分别称为一级、二级、三级胆管,呈树枝状分布^[2]。正常右肝管直径3.5 mm,左肝管直径3.3 mm,若超出其正常值、和/或有2、3级胆管增宽就称为肝内胆管扩张。肝内胆管直径达5 mm,为胆管轻度扩张;5-9 mm为中度扩张;>9 mm则为重度扩张。

肝内外胆管扩张在临床上比较常见^[3],除先天性因素、胆管内结石、寄生虫和胆管壁肿瘤引起肝内外胆管扩张外,还有一些不明的原因也可引起肝内外胆管扩张,患者常因此(伴或不伴自觉症状)而来医院就诊,病因复杂,处理非常棘手,因而,全面、系统、正确地认识肝内外胆管扩张显得十分必要。一般而言,先有肝外胆管扩张、后有肝内胆管扩张,但有时也不完全遵循这一规律,若病变在肝门或肝内即可引起肝内胆管扩张,而肝外胆管不扩张。本文通过病因分类来理清肝内外胆管扩张症的诊断思路,为早期确立诊断和合理的选择治疗提供理论支撑。

1 分类与病因诊断

肝内外胆管扩张可分为先天性肝内外胆管扩张和继发性肝内外胆管扩张两大类型。

1.1 先天性肝内外胆管扩张 先天性肝内外胆管扩张(囊肿)是一种少见的先天性畸形^[4,5],最早由德国的Vater(1713年)和英国Todd(1817年)提出,1852年美国Douglas描述1例,此后各国均有陆续报道。1958年,美国Alonso-Lej等^[6]将先天性胆总管扩张分为胆总管囊性扩张、胆总管憩室及胆总管末端囊肿三型。1965年Flanigan继法国Caroli报道(1959年)肝内末梢胆管发现有多发性囊性扩张(被称为Caroli病)后^[7,8],在三型基础上增加了“肝内、外胆管均有扩张和仅有肝内胆管扩张而无肝外胆管扩张”两型、共分五种类型^[9],1977年,Todani等^[10]将另外两种胆管囊肿,即包括类似Caroli病的肝内大胆管囊肿进行分类修改(图1)^[11],至今仍被各国同行所认可,并成为经典。

1.2 继发性肝内外胆管扩张 继发性肝内外胆管扩张,也称后天性或获得性肝内外胆管扩张,他是继发于某些疾病或某些后天因素而引起的一类肝内外胆管扩张。继发性肝内外胆管扩张,目前尚无分类方法,为了更好地认识这类扩张,笔者将其分类如下,可望开拓诊断思路。

1.2.1 按发病种类:可分为:结石性(36%)包括胆管结石、Minizzi综合征、慢性胆囊炎伴颈部结石嵌顿;代偿性(6%)包括胆囊切除术后、慢性

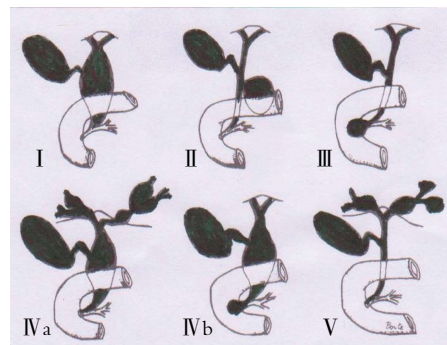


图1 Todani对胆管囊肿Alonso-Lej分类的修改。I:为囊性扩张;II:憩室样扩张;III:胆总管末端囊肿;IVa:肝内外胆管同时扩张;IVb:肝外胆管多处扩张;V:肝内胆管存在多个囊肿(Caroli病)。

萎缩性胆囊炎;寄生虫性(4%)包括胆道蛔虫、胆道姜片虫、胆道血吸虫、华支睾吸虫、肝包囊虫;炎症性(5%)包括胆管炎、缩窄性乳头炎;肿瘤性(24%)包括胆管癌、壶腹周围癌、十二指肠乳头癌、胆囊癌;管壁外压性(21%)包括胰头癌、癌肿转移至胆管旁、慢性胰腺炎或胰头部囊肿、胆管周围动脉瘤、十二指肠球部溃疡、乳头旁憩室炎;损伤性(2%)包括胆管狭窄、胆肠吻合口狭窄;其他(2%)包括胆道出血、Oddi's括约肌功能紊乱、十二指肠梗阻、异位胰腺等。

1.2.2 按与胆管的关系:可分为4种:(1)胆管腔内阻塞性胆管扩张,是指胆管腔内有结石^[12]、寄生虫等异物阻塞,或末端出口处被肿瘤阻塞所引起的一类胆管扩张。包括肝内外胆管结石、Mirizzi综合征、胆道寄生虫病^[13]、重症急性胆管炎;(2)胆管壁病变性胆管扩张,是指胆管壁本身长了息肉、肿瘤,胆管损伤或者由于炎症使胆管壁正常组织结构被破坏,导致病变部位狭窄所引起的一类胆管扩张。包括胆囊息肉、胆管腺瘤^[14]、胆管癌、胆管乳头状瘤、异位胰腺致胆管扩张、慢性胆管炎、壶腹周围癌、十二指肠乳头癌^[15]、胆囊癌侵犯胆管、胆管壁血管瘤、胆管损伤及胆肠吻合口狭窄;(3)胆管壁受压性胆管扩张,是指胆管腔内无异物阻塞,胆管壁本身亦无病变,而是胆管壁外受某些病灶的压迫^[16]、牵拉所引起的一类胆管扩张。包括急、慢性胰腺炎^[17,18]、胰腺假性囊肿^[19]、胰头癌、乳头旁憩室、转移性癌压迫胆管、多囊肝^[20,21]、十二指肠球后溃疡、胆汁瘤、胆管周围动脉瘤^[22];(4)其他,包括胆囊切除术后胆管扩张^[23]和其他少见原因引起的胆管扩张。

1.2.3 按胆道压力和原因:可分为6种:(1)压力性扩张,是指胆道压力升高后所致的扩张(图2),任何原

■相关报道

Nakeeb和黄志强院士从胆管梗阻角度,将其分为4种类型:(1)完全性梗阻;(2)间歇性梗阻;(3)慢性不完全性梗阻;(4)节段性梗阻。这种分型,对有胆管梗阻的病例,具有重要的参考意义,但肝内外胆管扩张症的患者不一定都有胆管梗阻。

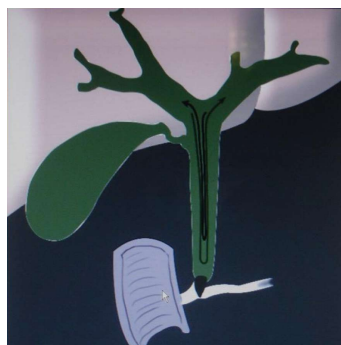


图2 胆总管下端阻塞,胆道压力升高,近侧胆管扩张、胆汁返流。

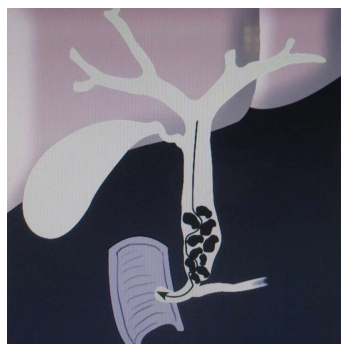


图3 胆总管充满结石,胆管扩张,胆汁从结石缝隙中通过,胆道压力不高,无黄疸。

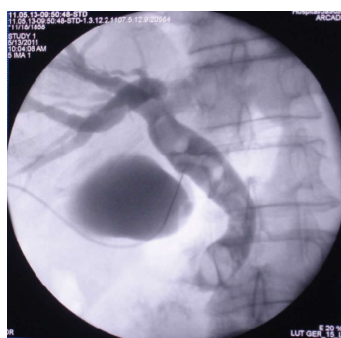


图4 术中胆道造影,胆总管内充满结石直径20 mm,但无黄疸。

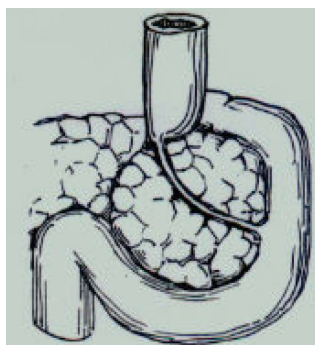


图5 胰段胆管被胰头部囊肿压迫成线条状。

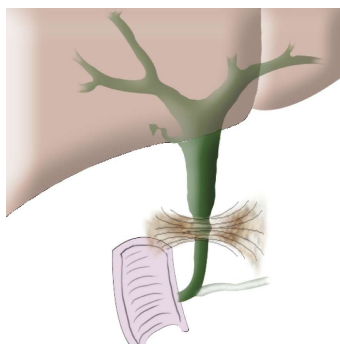


图6 多次手术后,胆管黏连压迫,近侧胆管扩张。

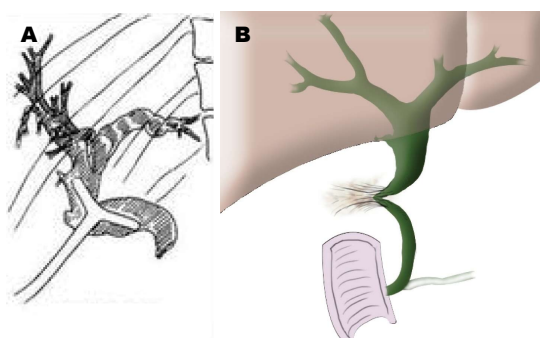


图7 胆总管置T管后,黏连变形。A: 胆管内置T管; B: T管拔除后,胆管黏连成角。

因造成的胆管远端阻塞,引起胆道压力升高^[24,25],均可导致胆管扩张和梗阻性黄疸^[26]。常见于胆管囊腺瘤和囊腺癌^[27,28],泥沙样结石、锥形结石、结石嵌顿、肿瘤、胆道隔膜和异位胰腺等;(2)撑开性扩张,是指管腔内有较多成形的结石或寄生虫,而胆汁可经结石或寄生虫之间的缝隙流入十二指肠,胆道压力不高或有轻度增高但未达阻黄阈 $20\text{ mmHg} = 2.94\text{ kPa}$ 水平^[29],不伴有梗阻性黄疸,系在结石形成、增大过程中将胆管逐渐撑开的一种扩张(图3, 4)。文献上报道的无黄疸性胆总管扩张症多属于这一类型;(3)压迫性扩张,是指胆管远端受某些疾病或因素的压迫而引起近侧胆管扩张。压迫程度不同,胆道压力高低不一,黄疸呈波动性。常见于胆囊颈结石嵌顿,胰十二指肠动脉瘤,急、慢性胰腺炎^[30],胰腺囊肿(图5),胰头癌或其他部位的癌肿转移压迫,乳头旁憩室炎等;(4)感染性扩张,因胆道反复感染,胆汁排出不畅,胆道压力随之升高(缓解期正常),或胆管壁

增厚,造成胆管扩张,常见于Oddi括约肌功能紊乱,胆道感染,化脓性胆管炎;(5)代偿性扩张,胆囊切除后,由于胆囊池消失、失去了储存胆汁的缓冲作用,术后患者胆总管有代偿性扩张,但这类患者如无不适很难来医院复查,即使来复查也只是在门诊行B超检查,难以统计到确切的病例数,本组80例胆囊切除术后代偿性胆管扩张主要是因其他病住院检查而发现的。慢性萎缩性胆囊炎,因胆囊壁无弹性,失去储存胆汁的缓冲作用,也可引起代偿性胆管扩张;(6)黏连性扩张,胆道手术后,局部组织黏连、牵拉胆管,严重者可使胆管受压(图6)、成角变形(图7),导致近侧胆管扩张。多见于多次胆道手术和T型管引流的病例。

2 结论

引起肝内外胆管扩张症的病因约有60余种,他

■创新盘点

本文将继发性肝内外胆管扩张的病因进行了科学、系统的总结和分类。国际肝胆胰协会原主席刘允怡院士看到这一分类方法后,对此作出了评价:“目前,对继发性肝内外胆管扩张尚无明确的分类方法,吕教授将其进行分类,客观而精辟,有独到之处,确实是一种创新”。

■应用要点

本文系统地总结了引起肝内外胆管扩张症的60多种病因,根据发病成因,与胆管的关系和胆道压力等因素将其进行分类,为该病的早期诊断展现了一个清晰的诊断思路,应该说具有极大的实用价值。

■名词解释

诊断思路: 诊断思维和路线, 最后达到明确诊断的目的。

可分为先天性肝内外胆管扩张和继发性肝内外胆管扩张两大类型, 后者又可按发病种类, 与胆管的关系和胆道压力进行分类, 通过病因分类, 可以理清肝内外胆管扩张症的诊断思路, 为早期诊断和治疗提供理论支撑。

3 参考文献

- 1 黄志强. 肝胆管外科的发展方向. 外科理论与实践 2011; 16: 329-331
- 2 黄洁夫. 肝胆胰外科学. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 81
- 3 Chaudhary A, Dhar P, Sachdev A, Kumar N, Vij JC, Sarin SK, Broor SL, Sharma SS. Choledochal cysts--differences in children and adults. *Br J Surg* 1996; 83: 186-188 [PMID: 8689160 DOI: 10.1002/bjs.1800830212]
- 4 Dowdy GS, Waldron GW, Brown WG. Surgical anatomy of the pancreatobiliary ductal system. Observations. *Arch Surg* 1962; 84: 229-246 [PMID: 13887616]
- 5 Okada A, Hasegawa T, Oguchi Y, Nakamura T. Recent advances in pathophysiology and surgical treatment of congenital dilatation of the bile duct. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2002; 9: 342-351 [PMID: 12353145 DOI: 10.1007/s005340200038]
- 6 Alonso-Lej F, Rever WB, Pessagno DJ. Congenital choledochal cyst, with a report of 2, and an analysis of 94, cases. *Int Abstr Surg* 1959; 108: 1-30 [PMID: 13625059]
- 7 Caroli J, Soupault R, Kossakowski J, Plocker L. [Congenital polycystic dilation of the intrahepatic bile ducts; attempt at classification]. *Sem Hop* 1958; 34: 488-495/SP [PMID: 13543375]
- 8 韩晓玉, 吕云福. Caroli's病的研究现状. 国际外科学杂志 2010; 37: 193-196
- 9 Söreide K, Körner H, Havnen J, Söreide JA. Bile duct cysts in adults. *Br J Surg* 2004; 91: 1538-1548 [PMID: 15549778 DOI: 10.1002/bjs.4815]
- 10 Todani T, Watanabe Y, Narusue M, Tabuchi K, Okajima K. Congenital bile duct cysts: Classification, operative procedures, and review of thirty-seven cases including cancer arising from choledochal cyst. *Am J Surg* 1977; 134: 263-269 [PMID: 889044]
- 11 李杨, 王一, 主译. 胆道疾病的诊断与治疗. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 243
- 12 Kim JH, Kim YS, Kim DK, Ha MS, Lee YJ, Lee JJ, Lee SJ, Won IS, Ku YS, Kim YS, Kim JH. Short-term clinical outcomes based on risk factors of recurrence after removing common bile duct stones with endoscopic papillary large balloon dilatation. *Clin Endosc* 2011; 44: 123-128 [PMID: 22741123 DOI: 10.5946/ce.2011.44.2.123]
- 13 魏建宁, 祝俊峰. 148例小儿胆道蛔虫症临床分析. 临床小儿外科杂志 2003; 2: 416-418
- 14 Koga F, Tanaka H, Takamatsu S, Baba S, Takihara H, Hasegawa A, Yanagihara E, Inoue T, Nakano T, Ueda C, Ono W. A case of very large intrahepatic bile duct adenoma followed for 7 years. *World J Clin Oncol* 2012; 3: 63-66 [PMID: 22574289]
- 15 Terada T. Non-invasive intraductal papillary neoplasms of the common bile duct: a clinicopathologic study of six cases. *Int J Clin Exp Pathol* 2012; 5:

■同行评价

本文论述了肝内外胆管扩张症的诊断思路, 有一定的参考价值。

690-697 [PMID: 22977666]

- 16 Lu YF, Zhang XX, Dong YH. Chronic pancreatitis-induced compressed relative stenosis of the distal common bile duct. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 119-122 [PMID: 16481297]
- 17 Repiso A, Gómez-Rodríguez R, García-Vela A, Pérez-Grueso MJ, Martín R, Romero M, Carrobbles JM. [Endosonographic examination of the common bile duct in patients with acute biliary pancreatitis]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 337-342 [PMID: 18752362]
- 18 Sakai Y, Tsuyuguchi T, Ishihara T, Yukisawa S, Sugiyama H, Miyakawa K, Kuroda Y, Yamaguchi T, Ozawa S, Yokosuka O. Long-term prognosis of patients with endoscopically treated postoperative bile duct stricture and bile duct stricture due to chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1191-1197 [PMID: 19682193]
- 19 吕云福, 祝庆华, 赵舸, 曹文东, 董永红, 李晓刚. 慢性胰腺炎引起胆总管末端狭窄的病理解剖类型及治疗. 中华普通外科杂志 2000; 15: 417-419
- 20 Everson GT, Taylor MR, Doctor RB. Polycystic disease of the liver. *Hepatology* 2004; 40: 774-782 [PMID: 15382167]
- 21 Vauthey JN, Maddern GJ, Kolbinger P, Baer HU, Blumgart LH. Clinical experience with adult polycystic liver disease. *Br J Surg* 1992; 79: 562-565 [PMID: 1611453 DOI: 10.1002/bjs.1800790629]
- 22 Yu YH, Sohn JH, Kim TY, Jeong JY, Han DS, Jeon YC, Kim MY. Hepatic artery pseudoaneurysm caused by acute idiopathic pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2291-2294 [PMID: 22611325 DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2291]
- 23 Park SM, Kim WS, Bae IH, Kim JH, Ryu DH, Jang LC, Choi JW. Common bile duct dilatation after cholecystectomy: a one-year prospective study. *J Korean Surg Soc* 2012; 83: 97-101 [PMID: 22880184 DOI: 10.4174/jkss.2012.83.2.97]
- 24 Mallet-Guy P. Value of peroperative manometric and roentgenographic examination in the diagnosis of pathologic changes and functional disturbances of the biliary tract. *Surg Gynecol Obstet* 1952; 94: 385-393 [PMID: 14913462]
- 25 石景森, 王炳煌. 胆道外科基础与临床. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 113-115
- 26 王葆春, 吕云福, 韩晓玉, 刘宁, 岳劫. 1098例胆管扩张症的病因构成及分类. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 752-754
- 27 Ishak KG, Willis GW, Cummins SD, Bullock AA. Biliary cystadenoma and cystadenocarcinoma: report of 14 cases and review of the literature. *Cancer* 1977; 39: 322-338
- 28 Subramony C, Herrera GA, Turbat-Herrera EA. Hepatobiliary cystadenoma. A study of five cases with reference to histogenesis. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 1036-1042 [PMID: 8215827]
- 29 吕云福, 王保春, 宫晓光, 韩晓玉, 张世杰, 刘宁, 翁少文. 胆总管急性梗阻时胆道压力胆管扩张黄疽三者的关系. 中华实验外科杂志 2011; 28: 1851-1852
- 30 Aimoto T, Uchida E, Nakamura Y, Yamahatsu K, Matsushita A, Katsuno A, Cho K, Kawamoto M. Current surgical treatment for chronic pancreatitis. *J Nippon Med Sch* 2011; 78: 352-359 [PMID: 22197867]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



ER- α 36介导的胃癌中miRNA表达的研究

邹丰, 王绪明, 刘丽江

邹丰, 王绪明, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室
湖北省武汉市 430056

刘丽江, 江大病理诊断所 湖北省武汉市 430056

邹丰, 讲师, 主要从事胃癌防治的分子机制研究.

国家自然科学基金面上基金资助项目, No. 81272754

武汉市青年科技晨光计划基金资助项目, No. 2013071004010475

作者贡献分布: 此课题由邹丰与刘丽江设计; 研究过程由邹丰完成; 免疫组织化学及RT-PCR部分由邹丰在刘丽江指导下完成; 免疫印迹部分由王绪明完成; 数据处理由邹丰完成; 论文写作由邹丰完成.

通讯作者: 刘丽江, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430056, 湖北省武汉市经济技术开发区三角湖路8号, 江大病理诊断所.

liulijiang@163.com

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-07-19

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Identification of miRNAs involved in ER- α 36-mediated gastric carcinogenesis

Feng Zou, Xu-Ming Wang, Li-Jiang Liu

Feng Zou, Xu-Ming Wang, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Li-Jiang Liu, Jiangda Pathology Institution, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China (NSFC), No. 81272754; the Young Chenguang Foundation of Wuhan, No. 2013071004010475

Correspondence to: Li-Jiang Liu, Professor, Chief Physician, Jiangda Pathology Institution, Wuhan 430056, Hubei Province, China. liulijiang@163.com

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-07-19

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To identify differentially expressed miRNAs involved in estrogen receptor- α 36 (ER- α 36)-mediated gastric carcinogenesis.

METHODS: SGC7901 cell lines with stable low or high expression of ER- α 36 were developed. MiRNA gene sequencing was performed in the above cell lines. The expression of ER- α 36 was detected by immunohistochemistry in 20 human gastric cancer specimens, and the expression of miR-184 and miR-143 in these specimens was detected by real-time PCR.

RESULTS: The expression of miR-184 and

miR-143 was significantly decreased in the SGC7901 cell line with stable high expression of ER- α 36 (2.78 and 2.95 folds, respectively), but was increased in the SGC7901 cell line with stable low expression of ER- α 36 (2.78 and 9.67 folds, respectively). The expression of miR-184 and miR-143 was negatively correlated with ER- α 36 expression in human gastric cancer tissues (miR-184 was up-regulated by 14.2 folds and miR-143 by 2.95 folds in ER- α 36-negative tissues compared to ER- α 36-positive tissues).

CONCLUSION: MiR-184 and miR-143 may mediate the occurrence and development of gastric cancer by regulating ER- α 36 expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Eestrogen receptor- α 36; miR-184; miR-143

Zou F, Wang XM, Liu LJ. Identification of miRNAs involved in ER- α 36-mediated gastric carcinogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2373-2377
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2373.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2373>

摘要

目的: 探讨胃癌中与雌激素受体(estrogen receptor, ER)- α 36有关的miRNA表达差异.

方法: 构建稳定转染低表达ER- α 36和高表达ER- α 36的SGC7901细胞系, 进行miRNA测序; 对20例人体胃癌组织行ER- α 36免疫组织化学染色, 将其分为阳性组和阴性组后通过Real-time PCR检测miR-184和miR-143的表达.

结果: 与对照组SGC7901细胞相比, 高表达ER- α 36的SGC7901细胞出现miR-184、miR-143等miRNA表达下调(miR-184下调2.78倍; miR-143下调2.95倍), 低表达ER- α 36的SGC7901细胞反之(miR-184上调3.17倍; miR-143上调3.11倍). PCR结果显示人体胃癌组织中ER- α 36阴性表达组与ER- α 36阳性表达组相比, miR-184上调14.2倍, miR-143上调9.67倍.

■背景资料

胃癌是全球常见的恶性肿瘤之一. 现有流行病学资料显示, 女性胃癌的人数明显少于男性胃癌, 但绝经后发病率与男性基本相同, 提示雌激素可能在胃癌的发生中起到一定作用. 雌激素依赖雌激素受体发挥作用. 经典雌激素受体雌激素受体(estrogen receptor, ER)- α 66的同源异构体ER- α 36是近些年来发现并克隆的, 其表达不完全依赖于ER- α 66, 并可单独经细胞膜启动雌激素类信号转导.

■同行评议者

李萍, 副教授, 汕头大学医学院病理学教研室

■ 研发前沿

经典雌激素受体ER- α 66的同源异构体ER- α 36能够介导胃癌的生长,但具体机制不详。miRNA通过对靶基因转录体的切割或对其翻译抑制两种途径来调控基因的表达,在肿瘤的发生和发展中均能发挥着重要调控作用。探寻与ER- α 36调控胃癌生长中为之相关的miRNA的表达差异,完善雌激素信号通路在胃癌发生中的作用机制。

■ 相关报道

Deng等采用PCR、免疫印迹和免疫荧光等方法证实人体胃癌细胞系(BGC-823、AGS、MKN-45、SGC7901)均能在mRNA、蛋白质及细胞内定位的不同层面表达ER- α 36蛋白,并且对雌激素、选择性雌激素受体调节剂以及雌激素受体特异性阻断剂(IC1182, 780)产生应答;ER- α 36蛋白在人体胃癌组织中也呈高表达,并且与胃癌的生物学行为相关。

结论: miR-184和miR-143可能是调控ER- α 36的重要分子,参与介导胃癌的发生与发展。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃癌; 雌激素受体- α 36; miR-184; miR-143

核心提示: 探讨胃癌中与雌激素受体(estrogen receptor α 36, ER- α 36)有关的miRNA表达差异,发现miR-184和miR-143等小RNA与ER- α 36的表达呈负相关,可能参与介导胃癌的发生与发展。

邹丰, 王绪明, 刘丽江. ER- α 36介导的胃癌中miRNA表达的研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2373-2377 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2373.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2373>

0 引言

胃癌是全球常见的恶性肿瘤之一,其发病率占恶性肿瘤的第4位,死亡率第2位^[1]。现有流行病学资料显示,男性胃癌的人数明显多于女性胃癌,但与女性绝经期后发病率基本相同,提示雌激素可能在胃癌的发生中起重要作用^[2]。雌激素通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)发挥作用效应。其亚型ER- α 除了参与细胞增殖、分化和凋亡外,也在冠心病及某些恶性肿瘤(如乳腺癌、结肠癌等)的发生中发挥一定的作用^[3]。本课题组前期研究发现,经典ER- α 受体ER- α 66的同源异构体ER- α 36能够介导胃癌的生长^[4]。

microRNA(miRNA)是长度为20-25 nt的一类具有高度保守的内源性非蛋白编码的小分子单链RNA,其主要功能是通过靶基因转录体的切割或对其翻译抑制两种途径来调控基因的表达^[5]。现已有大量文献证实miRNA在肿瘤的发生和发展中发挥着重要调控作用^[6]。本文在大量前期研究的基础上,探寻与ER- α 36调控胃癌生长中为之相关的miRNA的表达差异,为进一步完善雌激素信号通路在胃癌发生中的作用机制提供重要的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞系SGC7901由华中科技大学同济医学院免疫学系惠赠,为本实验室保存组织。20例石蜡包埋的人体胃癌样本来源于江大病理诊断所,患者术前均未接受过放疗及化疗。主要试剂: ER- α 36沉默质粒、ER- α 36过表达质粒、ER- α 36单克隆抗体均由美国Creighton大

学医学院医学中心王兆一教授馈赠; Actin抗体购自美国Santa Cruz公司; miR-143、miR-184、U6的Taqman引物和探针均购自美国Life Science公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: SGC7901细胞接种在含10%小牛血清的RPMI 1640培养基中,于37℃、5%CO₂培养箱中培养。每2-3 d待细胞增长至约70%-80%左右融合时胰酶消化传代。

1.2.2 构建稳定转染低表达ER- α 36和高表达ER- α 36的SGC7901细胞系: 通过ER- α 36有效靶序列^[7]设计合成单链寡聚DNA重组慢病毒。ER- α 36沉默质粒(pLKO.1-PURO-SP6-ER- α 36-L)和ER- α 36表达质粒(pLJM1-ER- α 36-H): ER- α 36 F: CCGGTTGATGCAATAGGTACTGAACTCGAGTTCAGTACCTATTGGCATCAATTTTTTG; ER- α 36 R: AATTCAAAAAATTGATGCCAATAGGTACTGAACTCGAGTTCAGTACCTATTGGCATCAA。以Lipofectamine 2000TM细胞转染试剂盒转染给包装细胞293T细胞,收集293T细胞的病毒悬液感染SGC7901细胞构建稳定低表达ER- α 36(ER- α 36 low)和稳定高表达ER- α 36(ER- α 36 high)的SGC7901转染细胞系。同时建立空载体转染SGC7901细胞系pLKO.1-PURO-scremble shRNA(ER- α 36 control)。采用Western blot检测ER- α 36的蛋白表达来鉴定重组细胞系的构建是否成功。

1.2.3 Western blot检测: 提取细胞胞浆总蛋白。按BCA蛋白含量测定试剂盒说明进行蛋白定量,SDS-PAGE后蛋白半干转印于PVDF膜,封闭后一抗分开孵育: 分别加入ER- α 36抗体和Actin抗体,4℃过夜;洗膜后孵育二抗,室温1 h,洗膜后于暗室中行ECL显色检测蛋白的表达,采用数码凝胶图像处理系统扫描测定ER- α 36和内参Actin的表达(用平均光密度值Density表示)。

1.2.4 miRNA测序: 两株SGC7901重组细胞系(ER- α 36 low、ER- α 36 high)和对照组SGC7901系(ER- α 36 control)送至深圳华大基因研究院进行miRNA测序。其结果为相应的miRNA表达谱。

1.2.5 免疫组织化学染色: 常规石蜡切片脱蜡至水。3%H₂O₂室温孵育5-10 min,蒸馏水冲洗, PBS浸泡。10%正常山羊血清(PBS稀释)封闭,室温孵育10 min,倾去血清。滴加ER- α 36工作液(1:500),4℃过夜。滴加适量生物素标记二抗工作液,37℃孵育30 min。滴加适量的辣根过氧化物

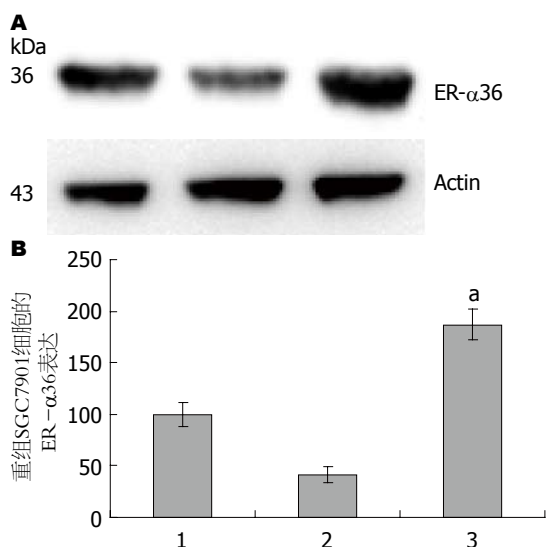


图1 低表达ER-α36和高表达ER-α36的SGC7901胃癌细胞株构建成功。A: Western blot检测结果; B: Western blot检测结果直方图。^a $P < 0.05$ vs ER-α36对照组。1: ER-α36对照组; 2: ER-α36低表达; 3: ER-α36高表达。ER-α36: 雌激素受体α36。

酶工作液, 37 °C 孵育30 min。DAB显色剂显色, 自来水反复冲洗, 复染, 脱水, 透明, 封片, 显微镜下观察。

1.2.6 Real-time PCR检测: 石蜡包埋的人体胃癌样本首先常规石蜡切片脱蜡, 用Isolation Additive试剂提取总RNA, 定量, 取10 ng RNA用于逆转录。逆转录和PCR反应均选用miR-184和miR-143的特异性TaqMan引物和探针。仪器选用Step One Plus(美国Applied Biosystems公司)。实验结束后用Step One Plus System SDS software分析数据。U6基因用作内参基因, Ct值用来反映每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数, PCR结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方式显示各组间的倍数关系。

统计学处理 所有数据应用统计学分析应用软件SPSS13.0处理, 以 t 检验用于计量资料的组间比较, 其中 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ER-α36重组细胞系的鉴定 通过Western blot检测对构建好的两株重组细胞系进行鉴定, 结果显示低表达ER-α36的SGC7901细胞组(ER-α36 high)的ER-α36蛋白表达要明显低于对照的SGC7901细胞组(ER-α36 control); 高表达ER-α36的SGC7901细胞组(ER-α36 low)的ER-α36蛋白表达要明显高于对照组SGC7901细胞组(ER-α36 control)(图1)。

2.2 胃癌细胞中与ER-α36相关的miRNA表达 与

表1 对照组SGC7901细胞、低表达ER-α36的SGC7901细胞和高表达ER-α36的SGC7901细胞的miRNA差异比较

miRNA	倍数差异 ¹	倍数差异 ²
hsa-miR-130a	1.0549022	-1.2208654
hsa-miR-143	3.1115631	-2.9596145
hsa-miR-15b	2.1410931	-1.6770794
hsa-miR-184	3.1731173	-2.7823983
hsa-miR-199a-3p	2.1584028	-1.7071819
hsa-miR-199b-3p	2.152746	-1.7071819
hsa-miR-31	2.704662	-1.1909115
hsa-miR-424	1.2071274	-1.2599222
hsa-miR-450a	1.8707823	-1.2581486
hsa-miR-455-3p	2.439201	-1.0381852
hsa-miR-629	1.2830178	-1.2763782
hsa-miR-664	1.7611351	-1.063114

¹对照组SGC7901细胞 vs 低表达ER-α36的SGC7901; ²对照组SGC7901细胞 vs 高表达ER-α36的SGC7901。ER-α36: 雌激素受体α36。

胃癌对照组SGC7901细胞(control 7901)相比, 高表达ER-α36的胃癌SGC7901细胞(ER-α36 high)中有52个miRNA发生差异变化, 低表达ER-α36的SGC7901细胞(ER-α36 low)中有245个miRNA发生差异变化。其中, 12个miRNA在两者的对比中呈相反的差异变化: 即在ER-α36 high组的SGC7901细胞表达下调, 同时又在ER-α36 low组中表达上调。其中, 与control 7901组细胞相比, ER-α36 high组细胞的miR-184下调2.78倍, miR-143下调2.95倍; ER-α36 low组细胞的miR-184上调3.17倍, miR-143上调3.11倍(表1)。

2.3 人体胃癌组织中ER-α36的表达 人体胃癌组织($n = 20$)的ER-α36免疫组织化学染色结果显示: 8例细胞膜及胞浆内未见黄色染色颗粒, 为ER-α36阴性组(图2A); 12例细胞膜及胞浆中可见明显的黄色染色颗粒, 为ER-α36阳性组(图2B)。

2.4 人体胃癌组织中miR-184和miR-143的表达 将上述经ER-α36免疫组织化学染色的人体胃癌组织分为ER-α36阴性组和ERα36阳性组。Real-time PCR检测miR-184和miR-143的表达。结果显示, 人体胃癌组织中ER-α36阴性表达组与ER-α36阳性表达组相比, miR-184上调14.2倍, miR-143上调9.67倍(图3)。

3 讨论

胃癌雌激素及ER的作用机制研究已有很长的历史。1986年首次发现胃癌细胞中表达ER, 研究

■创新盘点

雌激素受体ER-α36是近些年来发现并克隆的, 能够调控胃癌的发生和发展。miR-143和miR-184的功能抑制均能促进肿瘤的发生, 但两者在胃癌中的研究仍报道甚少。本研究提出miR-143和miR-184可能通过靶向ER-α36与胃癌的发生存在联系。

■应用要点

完善雌激素受体ER-α36介导胃癌中的雌激素信号研究通路; 建立miRNA靶向胃癌中的ER-α36的信号通路; 为胃癌的分子靶向治疗提供了重要线索, 具有一定的临床前景。

■名词解释

microRNA: 一类具有高度保守的内源性非蛋白编码的小分子单链RNA, 长度为20-25 nt. 其主要功能是通过靶基因转录体的切割或对其翻译抑制两种途径来调控基因的表达。

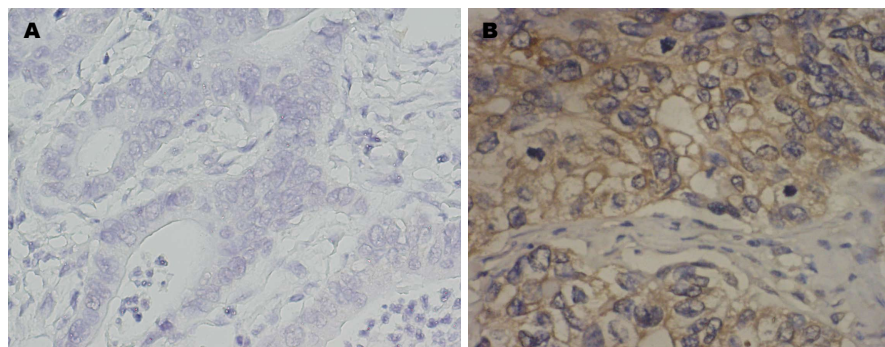


图2 人体胃癌组织的ER-α36免疫组织化学染色(×400)。A: 8例ER-α36阴性组中细胞膜及胞浆内未见黄色染色颗粒; B: 12例ER-α36阳性组中细胞膜及胞浆中可见明显的黄色染色颗粒。ER-α36: 雌激素受体α36。

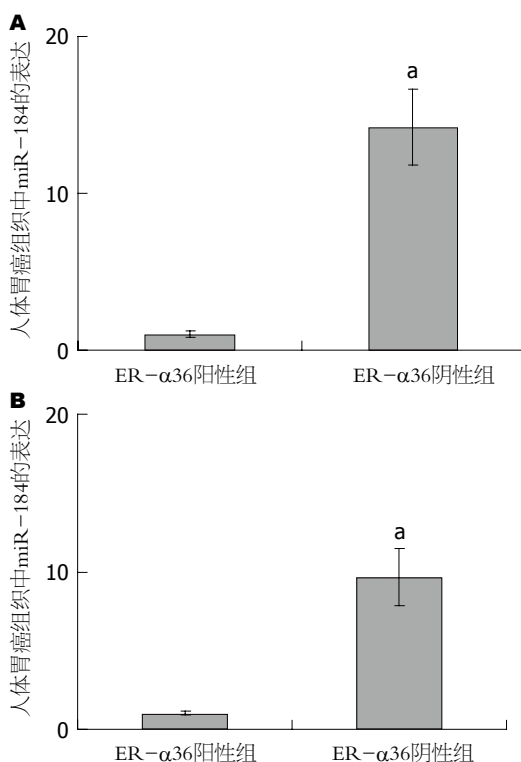


图3 人体胃癌组织的miR-184和miR-143的表达。A: ER-α36免疫组织化学染色阴性组($n=8$); B: ER-α36免疫组织化学染色阳性组($n=12$)。* $P<0.05$ vs ER-α36阳性组。ER-α36: 雌激素受体α36。

主要集中在ER-α66, 但其阳性率差异比较大, 约0%-50%^[8]。经典的ER-α受体主要包括ER-α66、ER-α46和ER-α36, 其中ER-α36是近些年来发现并克隆的, 其主要功能作用并不十分清楚。但有研究证实, ER-α36的表达不完全依赖于ER-α66, 并可单独经细胞膜启动雌激素类信号传导^[9]。

miRNA是近几年被证明的一类具有高度保守的内源性非蛋白编码的小分子单链RNA, 其主要功能是通过靶基因转录体的切割或对其翻译抑制两种途径来调控基因的表达。miR-143是一种高度保存的单拷贝基因, 位于人

类5号染色体q33位置^[10]。已有文献证实miR-143表达的下调可以促进食管鳞状细胞癌的发生^[11]。miR-143还能通过调控其靶基因DNA甲基转移酶3A蛋白来介导结肠癌的发生^[12]。miR-184是一种高度保存的单拷贝基因, 其位于人类15号染色体q25.1位置, 或小鼠的第9号染色体^[13,14]。成熟的miR-184在哺乳动物的大脑、睾丸和角膜上皮中、在斑马鱼的孵化腺和表皮中均有丰富的表达^[15]。研究显示, 原癌基因MYCN通过抑制miR-184, 增加其靶基因蛋白激酶B2(Akt2)的表达, 从而激活磷脂酰肌醇3激酶途径来促进肿瘤的增值^[16]。在舌鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma of tongue, SCC)中, miR-184在肿瘤患者的舌上皮细胞和血浆中均有高表达; 通过抑制miR-184的表达可以显著增加体外培养的SCC细胞的凋亡^[17]。从上述文献的内容来看, miR-143和miR-184的功能抑制均能促进肿瘤的发生, 然而两者在胃癌中的研究仍报道甚少。

我们通过基因测序的方法发现, 与ER-α36表达密切相关的miRNA, 我们对其中差异比较大的是miR-184和miR-143, 即高表达ER-α36的SGC7901细胞其miR-184和miR-143表达有着极显著的下调。而低表达ER-α36的SGC7901细胞其miR-184和miR-143表达又有着极显著的上调。因此我们推测ER-α36介导胃癌的发生可能受到miR-184和miR-143的调控。在人体胃癌组织中的验证得到了进一步的数据, 即发现ER-α36表达与miR-184或miR-143表达呈负性相关, 这为我们的假说提供了论证。但miR-184和miR-143调控ER-α36来介导胃癌的生长到底是以miR-184为主, 还是以miR-143为主, 或者是两者的协同作用以及还有那些基因参与都还需进一步的研究证实。

4 参考文献

- 1 Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. *Lancet* 2009; 374: 477-490 [PMID: 19625077 DOI: 10.1016/S0140-6736]
- 2 Sipponen P, Correa P. Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis. *Gastric Cancer* 2002; 5: 213-219 [PMID: 12491079]
- 3 Pedram A, Razandi M, Levin ER. Nature of functional estrogen receptors at the plasma membrane. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1996-2009 [PMID: 16645038]
- 4 Deng H, Huang X, Fan J, Wang L, Xia Q, Yang X, Wang Z, Liu L. A variant of estrogen receptor- α , ER- α 36 is expressed in human gastric cancer and is highly correlated with lymph node metastasis. *Oncol Rep* 2010; 24: 171-176 [PMID: 20514458]
- 5 Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, Kim VN. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 2004; 23: 4051-4060 [PMID: 15372072]
- 6 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460]
- 7 Wang Z, Zhang X, Shen P, Loggie BW, Chang Y, Deuel TF. Identification, cloning, and expression of human estrogen receptor- α 36, a novel variant of human estrogen receptor- α 66. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 336: 1023-1027 [PMID: 16165085]
- 8 Tokunaga A, Nishi K, Matsukura N, Tanaka N, Onda M, Shiota A, Asano G, Hayashi K. Estrogen and progesterone receptors in gastric cancer. *Cancer* 1986; 57: 1376-1379 [PMID: 3948119]
- 9 Wang Z, Zhang X, Shen P, Loggie BW, Chang Y, Deuel TF. A variant of estrogen receptor- α , hER- α 36: transduction of estrogen- and antiestrogen-dependent membrane-initiated mitogenic signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 9063-9068 [PMID: 16754886]
- 10 Cordes KR, Sheehy NT, White MP, Berry EC, Morton SU, Muth AN, Lee TH, Miano JM, Ivey KN, Srivastava D. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature* 2009; 460: 705-710 [PMID: 19578358 DOI: 10.1038/nature08195]
- 11 Wu BL, Xu LY, Du ZP, Liao LD, Zhang HF, Huang Q, Fang GQ, Li EM. MiRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 79-88 [PMID: 21218087 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.79]
- 12 Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J, Li JJ, Röcken C, Ebert MP, Kwok TT, Sung JJ. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 699-706 [PMID: 19638978 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605195]
- 13 Weitzel RP, Lesniewski ML, Greco NJ, Laughlin MJ. Reduced methyl-CpG protein binding contributing to miR-184 expression in umbilical cord blood CD4+ T-cells. *Leukemia* 2011; 25: 169-172 [PMID: 20927133 DOI: 10.1038/leu.2010.227]
- 14 Nomura T, Kimura M, Horii T, Morita S, Soejima H, Kudo S, Hatada I. MeCP2-dependent repression of an imprinted miR-184 released by depolarization. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 1192-1199 [PMID: 18203756 DOI: 10.1093/hmg/ddn011]
- 15 Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E, Horvitz HR, Kauppinen S, Plasterk RH. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science* 2005; 309: 310-311 [PMID: 15919954]
- 16 Foley NH, Bray IM, Tivnan A, Bryan K, Murphy DM, Buckley PG, Ryan J, O'Meara A, O'Sullivan M, Stallings RL. MicroRNA-184 inhibits neuroblastoma cell survival through targeting the serine/threonine kinase AKT2. *Mol Cancer* 2010; 9: 83 [PMID: 20409325 DOI: 10.1186/1476-4598-9-83]
- 17 Wong TS, Ho WK, Chan JY, Ng RW, Wei WI. Mature miR-184 and squamous cell carcinoma of the tongue. *ScientificWorldJournal* 2009; 9: 130-132 [PMID: 19219377 DOI: 10.1100/tsw.2009.12]

■同行评价

本文从培养细胞和人体胃癌组织两层面对胃癌ER- α 36表达与miR-184和miR-143表达的关系进行初步研究, 对了解胃癌发生发展的机制有一定意义. 实验设计合理, 图片清晰.

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



血清CK18-M65、M30与非酒精性脂肪肝病的相关性

蔡雯, 宋江美, 米合日古丽·热西提, 王利芳, 郭子双, 李格, 丁燕, 姚华

■背景资料

随着生活习惯和饮食结构的改变, 我国非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率增长迅速, NAFLD严重危害人类健康。肝活检是诊断NAFLD的金标准, 但其作为一项有创性检查。探索非创伤性诊断方法是当前诊治NAFLD所必需。细胞角蛋白18(cytokeratin-18, CK18)等细胞因子均是目前研究的热点。

蔡雯, 米合日古丽·热西提, 王利芳, 郭子双, 李格, 丁燕, 新疆医科大学 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

宋江美, 姚华, 新疆医科大学第一附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

蔡雯, 讲师, 主要从事代谢性疾病的研究。

国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, Nos.

2012CB722400, 2012CB722403

作者贡献分布: 蔡雯与宋江美对此文所作贡献均等; 此课题由蔡雯设计; 研究过程由蔡雯、宋江美、米合日古丽·热西提、王利芳、郭子双、李格及丁燕完成; 研究所用试剂与分析工具由姚华提供; 数据分析由蔡雯完成; 本文写作由蔡雯与宋江美共同完成。

通讯作者: 姚华, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路1号, 新疆医科大学第一附属医院。

yaohua01@sina.com

收稿日期: 2013-05-05 修回日期: 2013-07-03

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-28

Association of serum CK18-M65 and -M30 with non-alcoholic fatty liver disease

Wen Cai, Jiang-Mei Song, Miheriguli Rexiti, Li-Fang Wang, Zi-Shuang Guo, Ge Li, Yan Ding, Hua Yao

Wen Cai, Miheriguli Rexiti, Li-Fang Wang, Zi-Shuang Guo, Ge Li, Yan Ding, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jiang-Mei Song, Hua Yao, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), Nos. 2012CB722400, 2012CB722403

Correspondence to: Hua Yao, Professor, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 1 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. yaohua01@sina.com

Received: 2013-05-05 Revised: 2013-07-03

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To analyze the association of serum CK18-M65 and -M30 with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and to discuss the possible mechanisms responsible for the formation of NAFLD.

METHODS: Three hundred and nine patients with NAFLD treated from June 2011 to January 2013 at the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University were included in this study.

Two hundred and ninety healthy people served as normal controls. The average age of all subjects was $44.09 \text{ years} \pm 9.99 \text{ years}$. Questionnaire surveys, physical examination, abdominal ultrasound examination and blood biochemical examination were completed in all subjects. The levels of serum CK18-M65 and -M30 were determined using ELISA.

RESULTS: Serum levels of CK18-M30 were significantly higher in the NAFLD group than in the control group in both Uyghur and Han Chinese populations ($249.03 \text{ ng/L} \pm 133.58 \text{ ng/L}$ vs $142.30 \text{ ng/L} \pm 31.89 \text{ ng/L}$, $244.06 \text{ ng/L} \pm 73.76 \text{ ng/L}$ vs $143.16 \text{ ng/L} \pm 93.31 \text{ ng/L}$, both $P < 0.05$). There were no significant differences in serum levels of CK18-M65 between the NAFLD group and control group in both Uyghur and Han Chinese populations ($154.69 \text{ ng/L} \pm 138.07 \text{ ng/L}$ vs $160.70 \text{ ng/L} \pm 134.19 \text{ ng/L}$, $222.08 \text{ ng/L} \pm 170.52 \text{ ng/L}$ vs $239.52 \text{ ng/L} \pm 196.16 \text{ ng/L}$, both $P > 0.05$). After adjusting for age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), neutrophil count, lymphocyte count, hemoglobin concentration, fasting plasma glucose, serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), and low-density lipoprotein (LDL), serum levels of CK18-M30 were still significantly higher in the NAFLD group than in the control group, although no significant difference was noted in serum levels of CK18-M65. Logistic regression analysis showed that serum CK18-M30 level was a risk factor for NAFLD ($\text{OR} = 1.300$, $P < 0.01$), after adjusting for gender, age, BMI, SBP, DBP, TG, TC, HDL, and LDL.

CONCLUSION: Elevation of serum CK18-M30 levels is closely associated with NAFLD, and is an independent risk factor for NAFLD. Serum levels of CK18-M65 are unrelated to NAFLD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Cytokeratin 18; Apoptosis

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院 消化内科

Cai W, Song JM, Miheriguli Rexiti, Wang LF, Guo ZS, Li G, Ding Y, Yao H. Association of serum CK18-M65 and -M30 with non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2378-2384 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2378.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2378>

摘要

目的: 分析血清CK18-M30、M65与非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的相关性, 探讨其在NAFLD形成过程中的可能作用机制, 为预防NAFLD的向严重肝病发展提供临床依据。

方法: 选取2011-06/2013-01在新疆医科大学第一附属医院选择非酒精性脂肪肝患者309例, 选择健康对照人群290例; 平均年龄44.09岁 \pm 9.99岁; 对所有研究对象进行问卷调查、体格检查、腹部超声检查以及血液生化指标; 同时采用酶联免疫吸附法检测血清中细胞角蛋白18-M30和细胞角蛋白18-M65浓度。

结果: 维吾尔族、汉族人群NAFLD组CK18-M30水平分别为249.03 ng/L \pm 133.58 ng/L、244.06 ng/L \pm 73.76 ng/L, 对照组CK18-M30水平分别为142.30 ng/L \pm 31.89 ng/L、143.16 ng/L \pm 93.31 ng/L, 病例组高于对照组且差异具有统计学意义($P<0.05$); 维吾尔族、汉族人群NAFLD组CK18-M65水平分别为154.69 ng/L \pm 138.07 ng/L、222.08 ng/L \pm 170.52 ng/L, 对照组CK18-M65水平分别为160.70 ng/L \pm 134.19 ng/L、239.52 ng/L \pm 196.16 ng/L, NAFLD与对照组CK18-M65水平差异无统计学意义。在校正年龄、体质质量指数(body mass index, BMI)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、中性粒细胞计数(neutrophil count, NEUT)、淋巴细胞计数(lymphocyte count, LY)、血红蛋白浓度、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、血清甘油三酯(serum triglyceride, TG)、血清胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)等后, NAFLD组CK18-M30水平高于对照组, 而NAFLD组与对照组间CK18-M65水平差异无统计学意义。多因素Logistic回归分析结果提示在校正了性别、年龄、BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL、LDL等因素影响的情况下, 血清CK18-M30水平是患NAFLD危险因素, OR值为1.300($P<0.01$)。

结论: CK18-M30水平升高与NAFLD密切相关,

且是NAFLD独立危险因素, 而CK18-M65水平与NAFLD无相关性。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 细胞角蛋白18; 细胞凋亡

核心提示: 新疆维吾尔族、汉族人群CK18-M30水平升高与非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)密切相关, 且控制血糖、血脂、肝肾功能等指标后, CK18-M30为NAFLD独立危险因素, 但在两民族人群中CK18-M65水平与NAFLD无相关性。

蔡雯, 宋江美, 米合旦古丽·热西提, 王利芳, 郭子双, 李格, 丁燕, 姚华. 血清CK18-M65、M30与非酒精性脂肪肝病的相关性. *世界华人消化杂志* 2013; 21(24): 2378-2384 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2378.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2378>

0 引言

非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是遗传-环境-代谢-应激相关性肝脏疾病, 是一种无过量饮酒史的以肝实质细胞脂肪变性和脂肪贮积为特征的临床病理综合征^[1,2]。NAFLD疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及其相关肝硬化和肝细胞癌^[3-6]。近年来, NAFLD已经成为危害人类健康的三大肝病之一, 对人类健康构成了严重威胁^[7]。NAFLD的发病机制涉及到肝脏内脂肪堆积、细胞凋亡、氧化应激、炎症以及纤维化^[8-12]。细胞角蛋白18(cytokeratin-18, CK18)片段作为肝细胞凋亡生物标志物, 与NAFLD的发病机制及疾病进展有密切关系^[13,14]。本研究旨在探讨CK18-M65和CK18-M30在NAFLD患者中检测的临床意义, 为预防NAFLD的诊治提供临床依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-06/2013-01在新疆医科大学第一附属医院选择NAFLD患者309例, 健康对照290例(正常对照组), 其中男273例, 女326例, 汉族301例, 维吾尔族298例; 平均年龄44.09岁 \pm 9.99岁, 所有患者均为初诊, 未接受任何治疗措施, 包括饮食、运动及药物治疗。NAFLD诊断标准参照2010年中华医学会肝脏病学分会《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(修订版)》的临床诊断标准^[15], 丙氨酸氨基转移酶

■研究前沿

寻找NAFLD无创的诊断的实验室指标和影像学检查手段是目前的研究热点。氧化应激途径、细胞凋亡途径、肿瘤坏死因子及CK18等细胞因子均是目前研究的热点。今后的研究迫切需要开发出诊断准确性接近于肝活检的新系统。对于目前小规模研究提出的可行性较高的方案需要进一步大规模研究来证实。

■相关报道

有研究表明CK18在肝脏炎症程度的鉴别中具有一定作用。本研究选择汉族和维吾尔族NAFLD为研究对象,由于NAFLD患病的多因素性本研究控制了血糖、血脂等常见生化指标外,还控制中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、血红蛋白浓度影响后,仍表明血清CK18-M30水平升高为NAFLD危险因素,更证实CK18-M30与NAFLD密切相关。

(alanine transaminase, ALT)<70 U/L;血清肌酐(serum creatinine, SCr) <133 μ mol/L;乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎抗体均为阴性;排除体检信息不全,有大量饮酒史,慢性肝病史、癌症病史、肾病史、肝胆疾病史患者。入选标准:无饮酒史或饮酒折合乙醇量男性每周<140 g,女性<70 g;肝脏影像学表现符合弥漫性脂肪肝的影像学诊断标准。

1.2 方法

1.2.1 标本和资料数据收集标准:受试者空腹抽取前臂静脉血约5 mL,其中2 mL用于检测肝肾功能、血糖、血脂等,另3 mL立即加入抑肽酶,离心分离血清,于-20 $^{\circ}$ C保存待测空腹CK18-M65以及CK18-M30。

按统一标准进行体格检查,测量身高、体质量指数(body mass index, BMI)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、并详细记录。身高体重测定:受检者脱鞋、帽、外衣测量。腰围测定:腰围测量时受检者直立,用软皮尺在受检者腰部肋下缘与髂骨上缘中点处水平测量。血压测量:采用全自动电子血压计测量静息10 min以上后右上臂血压,连续2-3次取平均值。

所有研究对象均禁食水12 h后接受腹部超声波检查, B超检查均由两名资深影像学专科医师用同一台超声诊断仪(美国通用公司的LOGQ-I500Pro彩色多普勒超声诊断仪),操作检查并出具报告。影像学医师检查时不了解受检查者病史及该研究。

1.2.2 实验室检测:采用希森美康全自动血常规分析仪XE2100检测血红蛋白浓度,采用日立7060全自动生化分析仪检测血液生化指标血尿酸、血清甘油三酯(serum triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、ALT、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、血尿素氮、血肌酐、乙型肝炎病毒标志物等指标。采用酶联免疫吸附法测定血清CK18-M65以及CK18-M30,试剂盒购于美国Enzo公司。

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计分析。计量资料用mean \pm SD表示,以检验水准 $\alpha = 0.05$ 。计量资料两组比较采用 t 检验,计数

资料两组比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 汉族、维吾尔族人群NAFLD组和对照组CK18-M65和CK18-M30水平 维吾尔族、汉族人群NAFLD组CK18-M30、腰围、BMI、SBP、DBP、HGB、FPG、TC、LDL低于对照组,CK18-M65水平NAFLD组与对照组间的差异无统计学意义(表1)。

2.2 NAFLD组和对照组间CK18片段水平协方差分析 为进一步了解NAFLD组、对照组间血清CK18水平的差异是否独立于其他因素,采用协方差分析,校正性别、年龄、BMI、SBP、DBP、TC、HDL、LDL、TG、FPG两组间CK18-M30水平的差异仍有统计学意义,但两组间CK18-M65水平的差异无统计学意义(表2, 3)。

2.3 血清CK18-M30与非酒精性脂肪肝的Logistic回归分析结果 为进一步了解血清CK18-M30水平和NAFLD的关系是否独立于其他因素,采用Logistic回归以是否患脂肪肝为应变量,而性别、年龄、BMI、SBP、DBP、中性粒细胞计数(neutrophil count, NEUT)、淋巴细胞计数(lymphocyte count, LY)、血红蛋白浓度、FPG、TG、胆固醇、HDL、LDL、尿素氮、血肌酐、AST、ALT、CK18-M30、CK18-M65为自变量建立回归模型,结果血清CK18-M30水平升高作为NAFLD危险因素,OR值为1.300($P < 0.01$)(表4)。

3 讨论

目前普遍认为肥胖、糖尿病、高血脂、高血压等代谢相关疾病在NAFLD发生中起重要作用^[16-20]。II型糖尿病的患者中,NAFLD的患病率在10%-75%,高TG血症患者中NAFLD患病率为50%-70%,多种代谢紊乱并存者的患病率更高^[21,22],肥胖已被认为是脂肪肝的代谢症候群的诱发因素^[23]。从全球来看,各国NAFLD的流行都较为严重,成为欧美国家慢性肝病中的第一大病种^[24],在我国NAFLD的流行现状相对较严重且呈逐年上升的趋势。对人类健康和社会发展构成了严重威胁,已成为当代医学领域的新挑战。维吾尔族为新疆的主要少数民族之一,他们具有独特的遗传背景和饮食生活方式,其NAFLD的患病率较高^[25]。本研究为进一步研究

表 1 汉族、维吾尔族人群NAFLD及对照组各临床指标的比较 (mean ± SD)

	汉族			维吾尔族		
	NAFLD组	对照组	# χ^2 值	NAFLD组	对照组	# χ^2 值
年龄(岁)	45.62 ± 11.40	44.21 ± 10.31	1.126	43.07 ± 8.94	43.53 ± 9.04	-0.433
腰围(cm)	91.90 ± 9.70	79.04 ± 9.26	11.223 ^a	97.49 ± 10.08	86.37 ± 10.15	7.433 ^a
体质量指数(kg/m ²)	26.80 ± 3.37	22.69 ± 2.91	8.607 ^a	28.99 ± 3.41	25.06 ± 3.60	9.342 ^a
收缩压(mmHg)	125.78 ± 14.98	114.93 ± 15.31	6.086 ^a	125.50 ± 17.79	118.60 ± 16.92	3.283 ^a
舒张压(mmHg)	80.54 ± 11.02	75.33 ± 10.75	4.070 ^a	78.78 ± 12.69	73.90 ± 10.85	3.402 ^a
中性粒细胞计数(10 ⁹ /L)	4.19 ± 1.24	3.55 ± 1.21	4.563 ^a	4.20 ± 1.39	3.85 ± 1.62	1.972
淋巴细胞计数(10 ⁹ /L)	2.13 ± 0.59	1.84 ± 0.59	4.378 ^a	2.31 ± 0.58	2.14 ± 0.59	2.441 ^a
血红蛋白浓度(g/L)	145.53 ± 13.28	141.53 ± 14.78	2.464 ^a	142.46 ± 16.26	136.88 ± 19.85	2.562 ^a
空腹血糖(μmol/L)	5.31 ± 0.83	5.04 ± 0.51	3.301 ^a	5.63 ± 2.16	4.87 ± 0.47	4.338 ^a
甘油三酯(mmol/L)	2.50 ± 1.60	1.48 ± 1.41	5.032 ^a	1.85 ± 1.52	1.06 ± 0.54	0.166
胆固醇(mmol/L)	5.08 ± 0.95	4.52 ± 0.80	5.502 ^a	4.86 ± 1.06	4.50 ± 0.74	3.393 ^a
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.08 ± 0.29	1.28 ± 0.32	-5.209 ^a	1.21 ± 0.32	1.40 ± 0.35	-4.330 ^a
低密度脂蛋白(mmol/L)	3.01 ± 0.83	2.63 ± 0.64	4.019 ^a	3.04 ± 0.79	2.77 ± 0.62	3.057
血尿素氮(mmol/L)	5.29 ± 1.36	5.08 ± 1.44	1.282	4.82 ± 1.14	4.83 ± 1.25	-0.072
血肌酐(μmol/L)	69.23 ± 17.11	70.54 ± 13.00	-0.746	68.04 ± 20.32	69.60 ± 22.62	-0.622
尿酸(μmol/L)	357.83 ± 97.48	305.31 ± 86.92	4.916 ^a	310.28 ± 98.08	251.97 ± 81.86	5.433
谷草转氨酶(U/L)	24.86 ± 18.59	19.77 ± 10.58	2.939 ^a	22.26 ± 11.58	18.86 ± 6.09	3.237
谷丙转氨酶(U/L)	31.86 ± 21.69	18.72 ± 10.23	6.659 ^a	30.09 ± 22.05	21.59 ± 12.34	4.176
CK18-M30(ng/L)	244.06 ± 73.76	143.16 ± 93.31	10.366 ^a	249.03 ± 133.58	142.30 ± 31.89	9.867
CK18-M65(ng/L)	222.08 ± 170.52	239.52 ± 196.16	-0.821	154.69 ± 138.07	160.70 ± 134.19	-0.379
性别(男/女)	68/78	70/85	0.061	74/89	61/74	0.001

^a*P*<0.05 vs NAFLD组. NAFLD: 非酒精脂肪肝病.

表 2 校正其他影响因素情况下NAFLD组、对照组间CK18-M30差异的协方差分析

	MS	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
CK18-M30(ng/L)	76390.637	6.576	0.000
年龄(岁)	716.222	0.062	0.804
体质量指数(kg/m ²)	928.599	0.080	0.778
收缩压(mmHg)	499.181	0.043	0.836
舒张压(mmHg)	126.687	0.011	0.917
中性粒细胞计数(10 ⁹ /L)	7485.475	0.644	0.423
淋巴细胞计数(10 ⁹ /L)	48364.568	4.163	0.042
血红蛋白浓度(g/L)	2026.466	0.174	0.676
空腹血糖(μmol/L)	837.782	0.072	0.788
甘油三酯(mmol/L)	25244.043	2.173	0.141
胆固醇(mmol/L)	17686.656	1.522	0.218
高密度脂蛋白(mmol/L)	5521.477	0.475	0.491
低密度脂蛋白(mmol/L)	30816.881	2.653	0.104
血尿素氮(mmol/L)	5198.651	0.448	0.504
血肌酐(μmol/L)	6642.742	0.572	0.450
尿酸(μmol/L)	907.186	0.078	0.780
谷草转氨酶(U/L)	4126.352	0.355	0.552
谷丙转氨酶(U/L)	492.890	0.042	0.837

NAFLD: 非酒精脂肪肝病.

■创新盘点
维吾尔族为新疆主要少数民族, 具有独特饮食与遗传背景, 其NAFLD患病率高于汉族. 选择汉族和维吾尔族NAFLD为研究对象, 检测血清CK-18片段与NAFLD相关性, 为NAFLD的无创诊断提供可靠科学依据.

■应用要点

CK-18片段作为肝细胞凋亡生物标志物对NAFLD无创性诊断具有重要价值, 本研究对CK-18片段血液表达水平的评估, 从而达到对NAFLD向严重肝病发展的患者进行早期的监测, 以便为预防NAFLD向严重肝病发展提供依据。

表 3 校正其他影响因素情况下NAFLD组、对照组间CK18-M65差异的协方差分析

	MS	F值	P值
CK18-M65(ng/L)	40477.791	1.603	0.056
年龄(岁)	3327.451	0.132	0.717
体质量指数(kg/m ²)	297865.651	11.798	0.001
收缩压(mmHg)	1018.415	0.04	0.841
舒张压(mmHg)	736.386	0.029	0.864
中性粒细胞计数(10 ⁹ /L)	96.130	0.004	0.951
淋巴细胞计数(10 ⁹ /L)	15420.861	0.611	0.435
血红蛋白浓度(g/L)	26507.256	1.05	0.306
空腹血糖(μmol/L)	472.745	0.019	0.891
甘油三酯(mmol/L)	48824.281	1.934	0.165
胆固醇(mmol/L)	52121.205	2.065	0.152
高密度脂蛋白(mmol/L)	26800.331	1.062	0.303
低密度脂蛋白(mmol/L)	10718.122	0.425	0.515
血尿素氮(mmol/L)	34.101	0.001	0.971
血肌酐(μmol/L)	24208.560	0.959	0.328
血尿酸(μmol/L)	6128.984	0.243	0.622
谷草转氨酶(U/L)	49216.863	1.949	0.163
谷丙转氨酶(U/L)	33927.376	1.344	0.247

NAFLD: 非酒精脂肪肝病。

表 4 血清CK18-M30水平与脂肪肝的Logistic回归分析结果

变量	B	S.E.	Wald	df	P值	OR(95%CI)
体质量指数	0.321	0.077	17.563	1.000	0.000	1.378(1.186-1.601)
空腹血糖	1.108	0.480	5.322	1.000	0.021	3.027(1.181-7.758)
甘油三酯	0.393	0.205	3.659	1.000	0.056	1.482(0.990-2.216)
CK18-M30	0.263	0.037	51.620	1.000	0.000	1.300(1.211-1.397)
常数	-24.231	3.918	38.246	1.000	0.000	0.000

维吾尔族NAFLD的相关研究奠定了基础。

CK-18属于中间丝蛋白, 也是构成肝细胞中间丝蛋白的主要成分之一, 其主要功能是维持肝细胞正常结构保护其免受机械和非机械的损伤^[26,27]。血液循环中CK-18片段的含量与上皮细胞的凋亡、自噬、坏死3种死亡形式相关^[28]。CK-18片段作为肝细胞凋亡生物标志物^[5], 在肝细胞发生凋亡的过程中caspase酶分解肝细胞CK18暴露出特异的Asp396结合位点的蛋白片段, 这种分解的片段释放在血液的生理浓度中具有稳定性, CK18-M30抗体可识别该蛋白片段, 而在自噬、坏死的过程中CK18不被分解直接入血, 这部分CK18的完整片段则可能被CK18-M65抗体识别。有研究表明体质量正常NAFLD儿童中血清CK18水平高于无NAFLD的肥胖儿童^[29]。最近的研究发现NAFLD中即使

在ALT正常情况下, 血液中CK-18(M-30)也能反映肝脏的病理变化情况^[30]。可见CK18片段可作为NAFLD血清预测因子。本研究结果表明维吾尔族、汉族NAFLD组CK18-M30水平高于对照组且差异具有统计学意义, 但两民族中NAFLD组与对照组CK18-M65水平无差异。在校正年龄、BMI、SBP、DBP、NEUT、LY、HGB、FPG、TG、TC、HDL、LDL等后, NAFLD组CK18-M30水平高于对照组, CK18-M65水平无差异。在校正年龄、BMI、SBP、DBP、NEUT、LY、HGB、FPG、TG、TC、HDL、LDL等后, NAFLD组CK18-M30水平高于对照组, CK18-M65水平无差异。Bantel等发现血液中CK-18片段水平与肝细胞凋亡程度密切相关^[31], 而本研究证明血清CK-18片段水平与NAFLD、肝细胞凋亡密切相关。由于NAFLD患病的多

因素性及各种危险因素复杂的相互作用,本研究采用Logistic回归分析,调整了性别、年龄、BMI、SBP、DBP、NEUT、LY、HGB、FPG、TG、TC、HDL、LDL、BUN、SCr、AST、ALT的影响后,结果表明血清CK18-M30水平升高为NAFLD危险因素。有研究表明CK18-M65在肝脏炎症程度的鉴别中具有一定作用,但本研究CK18-M65片段在病例对照组间的差异无统计学意义^[32],该结果与钟黄研究结果一致,可能与在肝脏未出现大量炎症反应或细胞坏死前可出现凋亡产物CK18-M65的升高。细胞坏死为非基因调控的非特异性细胞死亡,可受多种因素的影响,缺乏足够的准确性和特异性。

总之,本研究仅在维吾尔族、汉族人群中探讨了CK18-M30与NAFLD及其影响因素的关系,研究结果证实血清CK18-M30水平升高为NAFLD危险因素,NAFLD与CK18-M30水平有着密切的关系,对NAFLD患者CK18血液表达水平的早期的监测,对NAFLD向严重肝病发展提供依据。

4 参考文献

- 1 Lee YJ, Lee HR, Lee JH, Shin YH, Shim JY. Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 175-180 [PMID: 19961393 DOI: 10.1515/CCLM.2010.037]
- 2 张忠勇, 祁月英, 苏秀海, 王晓蕴. 非酒精性脂肪肝病治疗研究进展. *现代中西医结合杂志* 2012; 21: 902-904
- 3 de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S104-S112 [PMID: 18304679 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.009]
- 4 王丽杰, 杨文军, 李玉林. 甲状腺激素与非酒精性脂肪肝. *华北煤炭医学院学报* 2011; 13: 182-184
- 5 王文强, 李昌平. 血红素氧合酶-1和抵抗素在非酒精性肝病中的作用. *西南军医* 2012; 14: 107-109
- 6 李瑜元. 非酒精性脂肪性肝病的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 109-115
- 7 Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 615-625 [PMID: 19223251 DOI: 10.1016/j.dld.2009.01.004]
- 8 Yoneda M, Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Endo H, Iida H, Nozaki Y, Yonemitsu K, Higurashi T, Takahashi H, Kobayashi N, Kirikoshi H, Abe Y, Inamori M, Kubota K, Saito S, Tamano M, Hiraishi H, Maeyama S, Yamaguchi N, Togo S, Nakajima A. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Liver Dis* 2008; 40: 371-378 [PMID: 18083083 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.019]
- 9 张朕华, 张中则, 李泽仁. 维奥欣对非酒精性脂肪肝血脂及氧化应激的影响研究. *中国医药指南* 2011; 9: 219-220
- 10 蒋兴亮, 张均, 刘素兰, 王光华. 非酒精性脂肪肝患者氧化应激和抗氧化酶状态. *四川医学* 2009; 30: 1958-1960
- 11 林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉. 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查. *世界华人消化杂志* 2013; 12: 1114-1119
- 12 蔡文品, 吴惠洁, 陈洁. 非酒精性脂肪性肝病患者血清细胞角蛋白18片段水平的变化. *医学研究杂志* 2011; 40: 102-104
- 13 Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009; 50: 1072-1078 [PMID: 19585618 DOI: 10.1002/hep.23050]
- 14 钱建成, 陆璐, 娄国强, 荀运浩, 施军平. 血清细胞角蛋白18诊断非酒精性脂肪性肝病的价值探讨. *实用肝脏病杂志* 2012; 15: 291-294
- 15 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 483-487
- 16 石光英, 郭新文, 王隽, 冯慧, 许爱云, 何方平. 脂联素与维吾尔族非酒精性脂肪肝病的关系. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 672-676
- 17 卢瑶, 张红. 非酒精性脂肪肝病与代谢综合征相关性研究. *齐齐哈尔医学院学报* 2011; 32: 698-699
- 18 李萍, 傅晓英, 徐谷根. 广州地区健康体检人群非酒精性脂肪肝病与代谢综合征的发病情况分析. *当代医学* 2012; 18: 162-163
- 19 张洪梅, 许华强, 张建功, 丁俊蓉, 陈艳. 非酒精性脂肪肝病者血清RBP4水平与胰岛素抵抗等相关性研究. *中华全科医学* 2011; 9: 211-212
- 20 洪鑫芳, 贺媛, 曾强, 杨丽. 北方地区成人脂肪肝危险因素的病例对照研究. *中国食物与营养* 2013; 19: 78-82
- 21 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 101-197
- 22 范建高. 非酒精性脂肪性肝病的临床流行病学研究. *中华消化杂志* 2002; 22: 106-107
- 23 Rector RS, Thyfault JP, Wei Y, Ibdah JA. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: an update. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 185-192 [PMID: 18186553 DOI: 10.3748/wjg.14.185]
- 24 杨玉峰, 南月敏. 脂联素与非酒精性脂肪性肝病的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2009; 25: 155-157
- 25 蔡雯, 何方平, 吴璇, 姚华. 维吾尔族、汉族非酒精性脂肪肝病与血尿酸的相关性研究. *中华内分泌代谢杂志* 2012; 28: 22-26
- 26 张莉, 施军平. 视黄醇结合蛋白4和细胞角蛋白18两个新发现的非酒精性脂肪肝病相关指标. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 160-163
- 27 钟黄, 李良平. 非酒精性脂肪性肝病非侵入性诊断的研究及细胞角蛋白18的意义. *国际消化病杂志* 2010; 30: 279-282
- 28 Kramer G, Erdal H, Mertens HJ, Nap M, Mauer-mann J, Steiner G, Marberger M, Bivén K, Shoshan MC, Linder S. Differentiation between cell death modes using measurements of different soluble forms of extracellular cytokeratin 18. *Cancer Res* 2004; 64: 1751-1756 [PMID: 14996736 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2455]
- 29 Vos MB, Barve S, Joshi-Barve S, Carew JD, Whittington PF, McClain CJ. Cytokeratin 18, a marker of cell death, is increased in children with suspected nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47: 481-485 [PMID: 18852641 DOI: 10.1097/MPG.0b013e31817e2bfb]
- 30 Yilmaz Y, Ulukaya E, Dolar E. Serum M30 levels: a potential biomarker of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease and normal aminotransferase levels. *Hepatology* 2009; 49: 697; author reply

■同行评价

本研究维吾尔族、汉族人群NAFLD与CK18相关性,对获得该地区数据具有一定意义,为NAFLD的无创诊断提供一定科学依据。

- 697 [PMID: 19035337 DOI: 10.1002/hep.22691]
- 31 李良平, 钟黄. 细胞角蛋白18片段和炎症相关因子在非酒精性脂肪性肝病不同代谢组分的表达水平及意义. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 606-609
- 32 Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C, Randhawa M,

Afendy M, Stepanova M, Rafiq N, Goodman Z, Chandhoke V, Baranova A. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obes Surg* 2008; 18: 1430-1437 [PMID: 18500507 DOI: 10.1007/s11695-008-9506-y]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

胃癌靶向治疗的研究进展

王李杰, 白莉, 焦顺昌

王李杰, 白莉, 焦顺昌, 中国人民解放军总医院解放军医学院肿瘤科 北京市 100853

作者贡献分布: 本文综述由王李杰与白莉完成; 焦顺昌负责审校。
通讯作者: 焦顺昌, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院解放军医学院肿瘤科. jiaosc@vip.sina.com

电话: 010-66937876

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-28

The rugged road to targeted therapy for gastric cancer

Li-Jie Wang, Li Bai, Shun-Chang Jiao

Li-Jie Wang, Li Bai, Shun-Chang Jiao, Department of Oncology, Chinese PLA General Hospital, PLA Medical School, Beijing 100853, China

Correspondence to: Shun-Chang Jiao, Professor, Chief physician, Department of Oncology, Chinese PLA General Hospital, PLA Medical School, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. jiaosc@vip.sina.com

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

Gastric cancer is the second leading cause of cancer related-death. Most patients with gastric cancer present with an advanced stage of the disease that has a poor prognosis. Molecularly targeted drugs combined with chemotherapy have been becoming the main treatment for advanced gastric cancer. A number of targeted agents modulating different signal transduction pathways are currently entering clinical trials, such as angiogenesis inhibitors and agents targeting epidermal growth factor receptor, hepatocyte growth factor, cell cycle, or matrix metalloproteinases. However, disappointing results were achieved in most phase III clinical trials, in which special patient selection by molecular biomarkers was not conducted. This systematic review synthesizes most of the data available from clinical trials, evaluates the efficacy and safety of molecularly targeted drugs and explores the rugged road to targeted therapy for advanced gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Targeted therapy; Mo-

lecularly targeted agents; Cetuximab; Trastuzumab

Wang LJ, Bai L, Jiao SC. The rugged road to targeted therapy for gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2385-2396 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2385.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2385>

摘要

胃癌是全球第2大肿瘤死因, 多数患者就诊时已属晚期, 预后差. 化疗药物联合分子靶向药物日益成为晚期胃癌的主要治疗方法和研究热点. 很多靶向药物已用于临床研究, 包括血管生成抑制剂、表皮生长因子抑制剂、肝细胞生长因子抑制剂、细胞周期调节剂、金属蛋白酶抑制剂. 但多数Ⅲ期临床研究结果令人失望, 主要原因是入组人群未经特异性分子靶点的筛选. 本文主要综述近年来胃癌靶向药物治疗的Ⅱ/Ⅲ期临床研究, 评价药物的有效性及安全性, 探索晚期胃癌靶向治疗的崎岖之路.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 靶向治疗; 分子靶向药物; 西妥昔单抗; 曲妥珠单抗

核心提示: 胃癌的靶向药物研究之路崎岖坎坷. ToGA研究获得成功, 多数临床研究未取得总生存期的理想结果, 究其原因, 可能存在人种、肿瘤部位、病理类型、分子靶点等因素未能完全纳入考虑. 胃癌是一种异质性疾病, 发生发展过程中的信号通路错综复杂, 而靶向药物主要针对特异的靶点, 如何寻找占主导作用的信号通路及更为特异的靶点将是靶向治疗的研究重点.

王李杰, 白莉, 焦顺昌. 胃癌靶向治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(24): 2385-2396 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2385.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2385>

0 引言

胃癌是全球第2大肿瘤死因和第4常见肿瘤类型, 每年诊出的胃癌患者超过100万例, 多数患者就

■背景资料

胃癌是全球第2大肿瘤死因, 在我国发病率高. 多数患者就诊时已属晚期, 预后差. 化疗药物联合分子靶向药物日益成为晚期胃癌主要治疗方法和研究热点. 本文主要综述近年来胃癌靶向药物治疗的Ⅱ/Ⅲ期临床研究, 评价药物的有效性及安全性, 探索晚期胃癌靶向治疗之路.

■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

■研发前沿

很多靶向药物已用于临床研究,包括血管生成抑制剂、表皮生长因子抑制剂、肝细胞生长因子抑制剂、细胞周期调节剂、金属蛋白酶抑制剂。但多数临床研究未取得令人满意的结果,主要原因是胃癌异质性强,发生发展过程中的信号通路错综复杂,而靶向药物主要针对特异的靶点,如何寻找占主导作用的信号通路及更为特异的靶点将是靶向治疗的研究重点。

诊时已属晚期。化疗药物联合分子靶向药日益成为晚期胃癌主要治疗方法和研究热点,但胃癌疾病异质性强,目前尚无标准治疗方案。随着胃癌分子生物学研究的不断进展,靶向治疗已成为胃癌个体化治疗的重点,但靶向治疗的探索之路崎岖坎坷,绝大多数研究以失败而告终。本文主要综述近年来胃癌靶向药物治疗的II/III期临床研究。

1 单克隆抗体

1.1 西妥昔单抗 西妥昔单抗(cetuximab, erbitux, C225)是抗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的人鼠嵌合型单克隆抗体,可与表达于正常细胞和多种癌细胞表面的EGFR特异性结合,竞争性抑制其与天然配体结合,阻断配体诱导的酪氨酸激酶磷酸化,阻断细胞内信号转导途径,从而抑制癌细胞的增殖,诱导细胞的凋亡,减少基质金属蛋白酶和血管内皮生长因子的产生。同时C225的人源化成分可与效应细胞受体结合,通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用杀伤肿瘤细胞。

西妥昔单抗治疗晚期胃癌II临床研究较多,目前已开展20余项。多项研究结果显示:西妥昔单抗联合化疗药物一线治疗晚期胃癌的客观有效率(objective response rate, ORR)为44.1%-68.6%,而二线有效率为3.6%-23.0%。

2009年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)年会成为西妥昔单抗的盛宴,共报道了4项西妥昔单抗联合化疗药物治疗晚期胃癌的II期临床研究结果,分别是西妥昔单抗联合伊立替康和氟尿嘧啶方案^[1](西妥昔单抗首剂量400 mg/m²,随后每周250 mg/m²,伊立替康80 mg/m²,亚叶酸钙200 mg/m²,氟尿嘧啶1500 mg/m²,24 h持续静滴,d1、8、15、22、29、36、50 d为1周期),西妥昔单抗联合奥沙利铂与伊立替康方案^[2](西妥昔单抗首剂量400 mg/m²,随后每周250 mg/m²,奥沙利铂85 mg/m²,伊立替康125 mg/m²,每2 wk为1周期),西妥昔单抗联合顺铂和氟尿嘧啶方案^[3](西妥昔单抗首剂量400 mg/m²,随后每周250 mg/m²,顺铂35 mg/m²,持续静滴24 h d1,氟尿嘧啶2000 mg/m²,亚叶酸钙300 mg/m²,d1、d8,持续24 h静滴,d15、28 d为1周期),西妥昔单抗联合多西紫杉醇与顺铂方案^[4](西妥昔单抗首剂量400 mg/m²,随后每周250 mg/m²,多西紫杉醇75 mg/m²,顺铂75 mg/m²,每3 wk为1周期)。结果显示:西妥昔单抗联合化疗可取得

44.0%-62.5%的肿瘤缓解率,疾病进展时间(time to progress, TTP)为5.5 mo-8.0 mo,总生存时间(overall survival, OS)为9.5 mo-16.0 mo。表明西妥昔单抗联合化疗治疗晚期胃癌具有一定的有效性,但并未显著提高总生存期。同时会议公布了基因检测结果^[5],KRAS和BRAF在晚期胃癌患者中的突变率较低,分别为11.4%(5/44例)和2.3%(1/44例);未发现KRAS或BRAF突变与有效率(response rate, RR)及OS的相关性。因此KRAS或BRAF的突变可能与西妥昔单抗对胃癌的疗效无相关性。

西妥昔单抗与何种化疗联合方案是最佳选择,2010年ASCO年会报道的CALGB 80403/ECOG 1206临床研究结果阐述了这一问题^[6]。晚期胃癌或食管腺癌患者210例分3组接受西妥昔单抗联合不同化疗方案(ECF,表阿霉素/顺铂/氟尿嘧啶;或IC,伊立替康/顺铂;或FOLFOX,奥沙利铂/氟尿嘧啶/亚叶酸钙),结果显示:3组的RR均超过40%,ECF联合西妥昔单抗组有效率最高(57.8%),但治疗相关的死亡率也最高,较多患者需要调整剂量;IC联合西妥昔单抗有效率(45.6%)和生存期最差,且不良事件多;而FOLFOX联合西妥昔单抗组有效率(53.6%)和安全性都较为满意。但本研究未设立单纯化疗组,无法判断西妥昔单抗使患者受益,更直接的证据应该期待III期临床研究的结果。

备受期待的EXPAND试验未能证实西妥昔单抗在一线治疗中使晚期胃癌患者总生存期受益。在这项开放、随机对照的多中心III期临床研究中^[7],870例未行切除的晚期胃腺癌或胃食管交界处腺癌患者随机分为西妥昔单抗组(顺铂80 mg/m² d1,卡培他滨1000 mg/m² d1-14,西妥昔单抗首剂量400 mg/m²,随后每周250 mg/m²,每3 wk为1周期)和对照组(顺铂80 mg/m² d1,卡培他滨1000 mg/m² d1-14,每3 wk为1周期)。结果显示,西妥昔单抗组与对照组相比,无进展生存期(progression free survival, PFS)呈非显著性下降,分别为4.4 mo和5.6 mo, [心率(heart rate, HR) = 1.09, 95%CI: 0.92-1.29, $P = 0.3158$];总生存期也未见受益,分别为9.4 mo和10.7 mo(HR = 1.0, $P = 0.96$),客观有效率分别为30%和29%。西妥昔单抗组血液系统不良事件率略低,西妥昔单抗组和对照组3/4级中性粒细胞减少症发生率分别为22%和32%,3/4级贫血发生率分别为9%和11%;非血液系统不良事件比单纯化疗组更为多见,包括3/4级皮肤

反应、腹泻、手足综合征、低镁血症和低钾血症。

结果令人遗憾, 与其他有关西妥昔单抗联合化疗药物治疗结直肠癌、头颈癌和肺癌的研究结果相反, 但这已经不是首个EGFR抑制剂用于胃癌治疗的失望结果。EXPAND研究的生物标志物分析还在进行, 需要在大样本异质性人群中多元分析, 才能获得可靠且与临床相关的生物标志物。同时针对胃癌的强异质性特点, 只有根据特定的生物标志物筛选出最优势人群才有望获得成功。

1.2 曲妥珠单抗 人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)蛋白是位于细胞膜表面的配体依赖性酪氨酸激酶受体, 与受体结合后可激活细胞信号转导通路, 导致肿瘤侵袭性生长、转移、刺激血管生成等。HER-2基因在多种肿瘤中高表达, 与肿瘤的侵袭、转移、化疗耐药及预后不良有明显的相关性。曲妥珠单抗是一种重组的人源化抗HER-2单克隆抗体, 与HER-2的胞外域有高度亲和力。研究显示胃癌HER-2阳性率约为15%-45%^[8]。

2007年Grávalos等^[9]开展的一项Ⅱ期临床研究已显示出曲妥珠单抗在HER-2阳性晚期胃癌治疗中的强大优势。228例患者中的22例(10%)表达HER-2阳性[免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)3⁺或IHC2⁺且荧光原位杂交法(fluorescence in situ hybridization, FISH)⁺], 客观有效率32%, 疾病控制率达64%, 疾病进展时间5.1 mo。初步证实曲妥珠单抗在晚期胃癌治疗方中的应用前景。

2009 ASCO ToGA试验结果给全球医学工作者注入强心剂, 对胃癌靶向治疗具有里程碑式的重要意义。ToGA试验是一项随机、前瞻性、多中心Ⅲ期临床试验, 旨在研究曲妥珠单抗在Her-2阳性的晚期胃癌患者的临床效果和安全性^[10]。来自欧洲、拉丁美洲、亚洲的24个国家的130个研究中心共3807例患者纳入该项试验, 所有患者进行HER-2检测, 其中810例(22.1%)为HER-2阳性。594例HER-2阳性的晚期胃癌患者1:1随机分为化疗组(氟尿嘧啶或卡培他滨联合顺铂)及曲妥珠单抗组(氟尿嘧啶或卡培他滨、顺铂联合曲妥珠单抗)。结果显示: 曲妥珠单抗组的中位生存期(median overall survival, mOS)明显高于化疗组(13.8 mo vs 11.1 mo, HR = 0.74, 95%CI: 0.60-0.91, $P = 0.0048$), PFS延长(6.7 mo vs 5.5 mo, $P = 0.0002$), ORR明显高于化疗组

(47.3% vs 34.5%, $P = 0.0017$)。两组在不良反应方面无统计学差异。亚组分析显示: HER-2阳性率在亚洲和欧洲人群中类似(23.5% vs 23.6%), 并随肿瘤部位不同而存在差异, 胃食管交界处肿瘤HER-2阳性率高于胃癌(33.2% vs 20.9%, $P = 0.001$), 肠型胃癌HER-2阳性率高于弥漫型/混合型胃癌(32.2% vs 6.1%/20.4%, $P = 0.001$)。

ToGA研究第一次证实靶向药物曲妥珠单抗联合化疗可显著改善HER-2阳性晚期胃癌患者的生存, 第1次使患者的总生存期超过1年(达到13.8 mo); 同时使客观有效率从34.5%提高至47.3%。ToGA研究是第1个在分子检测基础上进行的胃癌靶向治疗的Ⅲ期临床试验, 该研究的成功很大程度上得益于人群的选择, HER-2表达IHC(++)/FISH(+)或IHC(+++)的患者, 曲妥珠单抗联合化疗获益明显。但是, 亚组分析显示, HER-2表达IHC为(+)/FISH阳性的患者中有部分获益者, 而且HER-2表达强阳性的患者中, 也有患者不能从曲妥珠单抗联合化疗中获益。所以, 关于曲妥珠单抗进一步的疗效预测指标仍需深入探索。

鉴于ToGA研究结果, 晚期胃癌患者在确诊时都应接受HER-2检测, 曲妥珠单抗联合化疗已成为HER-2阳性晚期胃癌患者的标准治疗。2010-10美国FDA批准了曲妥珠单抗联合化疗(氟尿嘧啶/卡培他滨联合顺铂)治疗HER-2表达过度的转移性胃或胃-食管接合部肿瘤。中国也于2012-08批准曲妥珠单抗治疗HER-2阳性转移性胃癌的适应证。

1.3 贝伐珠单抗 贝伐珠单抗是一种重组的人源化单克隆抗体, 可以选择性与人血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)结合并阻断其生物活性, 抑制酪氨酸激酶信号通路, 从而抑制内皮细胞增生和新生血管形成, 延缓肿瘤的生长和转移。在与化疗药物联用时, 还可以使血管的通透性增加, 促进药物向肿瘤内渗透, 达到增敏的效果。

2006年Shah等^[11]首次报道了贝伐单抗联合伊立替康和顺铂一线治疗转移性胃癌或胃食管连接部腺癌Ⅱ期临床研究, 结果显示: 共入组47例患者, mOS为12.3 mo, 平均进展时间(median time to progression, mTTP)为8.3 mo, RR达65%, 不良反应主要为胃穿孔(6%)、Ⅲ/Ⅳ级静脉血栓事件(25%)、胃出血(4%)、高血压(28%)等, 其中66%血栓事件并无临床症状而是偶然发现的。另一项Ⅱ期研究取得了相似的结果, 贝伐单

■ 相关报道

ToGA研究使曲妥珠单抗联合化疗成为HER-2阳性晚期胃癌患者的标准治疗。晚期胃癌患者生存期超过1年, 结果令人鼓舞。

■创新盘点

本综述不仅全面详细回顾了近年来胃癌靶向药物治疗的临床研究结果,而且对其结果进行了深入的分析,探讨其成功的经验和失败的教训。

抗联合多西他赛和奥沙利铂一线治疗38例晚期胃癌患者中^[12],完全缓解(complete response, CR)2例,部分缓解(partial response, PR)14例,疾病稳定(stable disease, SD)14例, mPFS为6.6 mo(95%CI: 4.4-10.5 mo), mOS为11.1 mo(95%CI: 8.2-15.3 mo),但有3例患者发生了胃肠穿孔。2009 ASCO报道的一项晚期胃癌的II期临床研究中,贝伐单抗联合mDCF方案一线治疗显示出良好的效果^[13],最终的结果显示:入组44例患者,可评价的39例患者中,RR为67%(95%CI: 50%-81%), mPFS为12 mo(95%CI: 8.8-18.2 mo), mOS为16.8 mo(95%CI: 12.1-26.1 mo), 2年生存率为37%,主要3/4度不良反应中性粒细胞下降(50%)、疲乏(25%)、静脉血栓(39%),1例患者出现胃肠道穿孔。

上述研究均表明,贝伐单抗联合化疗一线治疗晚期胃癌有较高的有效率,但不良反应重,应值得重视。

贝伐单抗联合化疗在二线及二线上晚期胃癌治疗中也有不错的疗效。2006年报道的2项II期临床研究中,贝伐单抗联合多西他赛^[14]或卡培他滨/丝裂霉素^[15],有效率为25%-27%。

2010年ASCO报道了AVAGAST的III期临床试验结果^[16]。AVAGAST是一项随机、双盲、安慰剂对照的多中心III期临床试验,主要评价贝伐单抗联合顺铂、卡培他滨一线治疗进展期胃癌的疗效,共17个国家93个研究中心774例患者入组,研究组给予贝伐单抗(7.5 mg/kg, 每3 wk为1周期)联合顺铂/卡培他滨(顺铂 80 mg/m² d1; 卡培他滨1000 mg/m² 2次/d d1-14; 21 d为1周期),对照组给予安慰剂联合顺铂/卡培他滨,研究主要终点是总生存的优效性,次要终点包括无进展生存、客观反应率。结果显示贝伐单抗并未显著延长总生存期(12.1 mo vs 10.1 mo, HR = 0.87, $P = 0.10$),无进展生存显著延长(6.7 mo vs 5.3 mo, HR = 0.80, $P = 0.0037$),客观反应率提高(46% vs 37%, $P = 0.0315$)。亚组分析中,美洲人群获益最高(OS: 11.5 mo vs 6.8 mo, HR = 0.63),欧洲人群(OS: 11.1 mo vs 8.6 mo, HR = 0.85),亚洲人群(OS: 13.9 mo vs 12.1 mo, HR = 0.9)。

Manish在2012年ASCO报告了AVAGAST研究根据疾病亚组分析得出的总生存期结果。研究根据肿瘤部位与Lauren分型,将入组患者分为近端弥漫型(1型)、弥漫型(2型)、远端非弥漫型(3型)。结果显示,最常见的分型为2型(52.1%),其次为3型(38.3%)、1型(9.5%)。2型胃癌患者的OS

不及3型胃癌患者(10.3 mo vs 11.7 mo, HR = 0.82, 95%CI: 0.68-1.00);非亚裔2型与3型胃癌患者可从贝伐单抗治疗中获益。

AVAGAST的研究结果引发了争议。不同人群从贝伐单抗获得的总生存益处不同,美国患者获益最大(HR = 0.63),其次为欧洲患者(HR = 0.85),亚洲入组患者中则几乎未观察到这种益处(HR = 0.97)。韩国的主要研究者KONG医生解释了可能的原因:试验中不同地区的患者在疾病进展后接受二线治疗的比例明显不同(亚洲、欧洲、美洲分别为61%、31%和21%),可能影响了OS。但来自美国的评论者Fuchs医生则认为基于目前的研究结果,并不能支持在晚期胃癌患者常规使用贝伐单抗,鉴于试验显示出来的PFS优势,也主张进一步开展研究。AVAGAST的研究结果再次提示:晚期胃癌靶向治疗中,病例选择、临床实践、群体遗传学、肿瘤生物学的地区差异可能影响了最终效果,最优势人群的选择是临床研究的重点。

1.4 帕尼单抗 帕尼单抗是第1个完全人源化IgG2单克隆抗体,与EGFR相结合,可阻止其与配体结合,从而阻断癌细胞生长,已经在EGFR阳性的进展期结直肠癌中显示了疗效。27%-50%的食管胃腺癌存在EGFR的过表达,且EGFR过表达与预后差相关。

REAL3是一项全球多中心随机临床研究^[17],旨在评价帕尼单抗联合表柔比星、奥沙利铂和卡培他滨(EOC)治疗晚期食管胃腺癌的疗效及毒性。2012年ASCO会议报道了该研究令人遗憾的结果。共553例晚期食管胃腺癌患者被随机分入EOC组[表柔比星50 mg/m²,奥沙利铂130 mg/m²,卡培他滨1250 mg/(m²·d)]或mEOC+P组[表柔比星50 mg/m²,奥沙利铂100 mg/m²,卡培他滨1000 mg/(m²·d),帕尼单抗9 mg/kg],主要研究终点是总生存,次要研究终点是无进展生存、有效率、毒性以及生物标志物的评价。结果显示:EOC组275例,mEOC+P组278例,EOC组的mOS为11.3 mo,mEOC+P组为8.8 mo(HR = 1.37, 95%CI: 1.07-1.76, $P = 0.013$);两组的mPFS分别为7.4 mo和6 mo(HR = 1.22, 95%CI: 0.98-1.52, $P = 0.068$);有效率分别为42%和46%(OR = 1.16, 95%CI: 0.81-1.57, $P = 0.467$)。与EOC组相比,mEOC+P组的3/4度腹泻(17% vs 11%)、皮疹(14% vs 1%)及血栓性事件(12% vs 7%)增多,但血液学毒性较少。mEOC+P组中,治疗后出现1-3度皮疹的患者(77%, $n = 209$)较无皮疹患者(23%,

$n = 63$)的OS显著延长, mOS分别为10.2 mo vs 4.3 mo($P < 0.001$); RR和PFS也有类似的显著改善. 对最先入组的200例患者进行的生物标志物分析未找出与帕尼单抗治疗有关的其他预测指标. 对OS的多变量分析显示KRAS突变(HR = 2.10, 95%CI: 1.10-4.05, $P = 0.025$)及PIK3CA突变与预后均为负相关(HR = 2.20, 95%CI: 1.01-10.40, $P = 0.048$).

研究者认为, mEOC+P未能从治疗中获益, 可能由于EOC方案3/4度腹泻发生率高, 未必是与帕尼单抗联合的最佳方案, 而且未经生物学标志物筛选进行的临床研究, 可能是帕尼单抗未能获益的主要原因. mEOC+P更差的生存倾向可能与化疗药物剂量不足、抗体停药后肿瘤加速进展、体能下降失去再治疗机会有关. 因此, 2011-10独立数据监察委员会对该研究进行评审后, 终止了试验入组, 也停止帕尼单抗治疗.

1.5 马妥珠单抗 马妥珠单抗是人源化IgG1单克隆抗体, 与EGFR亲和力高, 应用方便. 2005年ASCO年会上报告了马妥珠单抗联合化疗一线治疗晚期胃食管腺癌的I期研究^[18]. 该研究共纳入10例患者, 其中9例患者EGFR阳性, 试验采用马妥珠单抗和化疗联合的方法, 马妥珠单抗为400 mg或800 mg, 每周1次, 连续7 wk, 化疗方案为PFL(顺铂50 mg/m², d1、15、29, 氟尿嘧啶2000 mg/m²及亚叶酸钙500 mg/m², d1、8、15、22、29、36; 连用7 wk), 结果显示: 可评价患者8例, 剂量为400 mg组4例PR、1例SD和1例PD, 800 mg组2例均为PR, 最常见的不良反应为皮肤反应, 其中III度或IV度不良反应为皮肤脱屑.

2008年Rao等^[19]报道了马妥珠单抗联合ECX方案(表阿霉素50 mg/m², d1; 顺铂60 mg/m², d1, 卡培他滨1000 mg/m², d1-14, 21 d为1周期)一线治疗进展期食管胃癌的I期临床试验, 21例EGFR高表达患者随机分组接受治疗, 马妥珠单抗的剂量分别为400 mg qw、800 mg qw以及1200 mg q3w. 客观有效率为65%, 疾病稳定率为25%, 疾病控制率为90%. 安全性方面, 试验中1200 mg q3w组中主要限制毒性剂量为3级嗜睡, 确定800 mg qw为最大耐受剂量, 其他主要不良反应包括皮疹、恶心、口腔黏膜炎和腹泻. 同时发现马妥珠单抗可提高EGFR和MAPK的磷酸化水平, 降低STAT-3的磷酸化水平.

2010年Rao等^[20]继续报道II期临床研究

结果. 35例晚期胃癌患者进入马妥珠单抗联合ECX组, 36例患者进入ECX组, 结果显示: 马妥珠单抗联合ECX组RR为31%, ECX组为58%($P = 0.994$), 马妥珠单抗联合化疗组的总生存期及无进展生存期均劣于单纯化疗组(OS: 4.8 mo vs 7.1 mo, PFS: 9.4 mo vs 12.2 mo). 鉴于令人沮丧的II期试验结果, 研究者认为马妥珠单抗联合ECX组, 不能提高晚期胃癌的有效率和生存期, 建议不再进行III期临床研究. 此后由于马妥珠单抗在结肠癌、非小细胞肺癌等其他肿瘤的II期临床研究中, 均未能达到预先确定的临床目标, 德国默克公司于2008-02-18联合宣布停止开发该药.

马妥珠单抗的偃旗息鼓再一次证明胃癌的异质性疾病特点, 未详尽考虑胃癌分子靶点的临床研究很难取得良好的效果.

1.6 Onartuzumab c-Met为一种表达于细胞表面的受体酪氨酸激酶, 可被其配体肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)激活, 促进肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭, 抑制细胞凋亡. 多种肿瘤中均存在Met/HGF信号通路的激活. Onartuzumab(MetMAb)为一种重组人源化单价单克隆抗体, 可通过阻止HGF与Met的结合而发挥抗肿瘤作用. 临床研究显示, Onartuzumab与厄洛替尼联用可显著延长Met阳性NSCLC患者的生存时间. 一项Onartuzumab联合mFOLFOX6治疗HER-2阴性晚期胃癌的II期临床研究已经开展, 结果拭目以待.

1.7 Figitumumab 胰岛素样生长因子受体-1(insulin-like growth factor receptor-1, IGF-1R)是一种酪氨酸激酶跨膜蛋白受体, 对细胞的分裂分化和增殖具有重要的调控作用, 与肿瘤细胞增殖、分化和转移相关. 当配体与IGF-1R结合后, 激活位于细胞内的酪氨酸激酶, 通过启动RAS-RAF-MAPK和PI3K-PKB/Akt信号通路, 促进细胞有丝分裂及生长. IGF-1R在多种肿瘤中呈高表达, 高表达的IGF-1R可传递信号以增加细胞周期蛋白D的表达水平, 促进肿瘤细胞的增殖. 两项研究显示: 62%-77%的胃癌组织呈高表达IGF-1R, 易发生淋巴结转移, 与患者不良预后相关^[21,22].

Figitumumab是IGF-1R的全人源化IgG2单克隆抗体, 能够抑制自身磷酸化作用, 诱导受体内化. I/II期临床研究证实, Figitumumab对尤文肉瘤、非小细胞肺癌有效, 但在非小细胞肺癌的III期临床研究中, 因无法达到研究终

■应用要点

化疗药物联合分子靶向药物日益成为晚期胃癌主要治疗方法和研究热点, 但胃癌是一种异质性疾病, 存在人种、肿瘤部位、病理类型、分子靶点等因素的差异. 因此个体化治疗中, 有效靶点的检测是靶向治疗的核心. 在靶向治疗的临床研究中, 入组人群经特异性分子靶点的筛选可能是成功的关键.

■同行评价

分子靶向药物在结直肠癌中的疗效已得到了明确的肯定, 获得了较好的效果, 但在胃癌研究中还处于探索阶段, 该综述全面、深入论述了分子靶向药物治疗胃癌的研究现状、进展和存在的问题, 文章结构较清晰, 文笔较流畅, 有一定的临床意义。

点而中途停止。该药在胃癌治疗中处于 I 期临床研究阶段^[23], 常见不良反应为高血糖及脱水, 其药物有效性及安全性尚需进一步试验数据以证实。

2 小分子抑制剂

2.1 依维莫司 依维莫司是mTOR抑制剂。mTOR是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 属于磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶蛋白家族, 主要通过PI3K/Akt/mTOR途径来实现对细胞生长、增殖、细胞周期等多种生理功能的调控作用。mTOR信号通路调控异常与肿瘤发生密切相关, 抑制mTOR通路可以有效阻断各种生长因子异常信号的转导, 从而抑制癌症的发生、发展。依维莫司是雷帕霉素的半合成衍生物, 水溶性好, 在体内免疫活性与雷帕霉素相当, 具有免疫抑制及抗肿瘤作用。目前已被FDA批准用于治疗常规治疗失败的晚期肾癌患者。胃癌mTOR表达率为40%-80%^[24], 磷酸化的mTOR(p-mTOR)是mTOR在体内的活化形式。胃癌组织中p-mTOR的表达与预后呈负相关。

在胃癌治疗中, 2010年Doi等^[25]报道的一项多中心 II 期临床试验显示出依维莫司具有一定的疗效, 53例既往接受过化疗的进展期胃癌患者, 给予依维莫司治疗(10 mg, 口服, 1次/d, 直至疾病进展), 结果显示疾病控制率为56.0%(95%CI: 41.3%-70.0%), mOS为10.1 mo(95%CI: 6.0-12.1 mo), mPFS为2.7 mo(95%CI: 1.6-3.0 mo)。不良反应为III-IV级贫血、低钠血症、 γ -谷氨酰转移酶增加、淋巴细胞减少等。初步显示了依维莫司在胃癌治疗中的疗效和安全性。

GRANITE-1研究结果在2012年ASCO会议上公布。这项随机、双盲、多中心III期临床试验主要研究依维莫司治疗一线或二线化疗失败的进展期胃癌^[26], 研究主要终点是OS, 次要终点包括PFS、ORR。共入组656例患者, 其中55.3%患者来自亚洲, 47.7%患者仅接收过一线化疗。结果显示: 依维莫司10 mg/d联合最佳支持治疗对比安慰剂联合最佳支持治疗, 未能改善总生存(OS: 5.39 mo vs 4.34 mo, HR = 0.90, $P = 0.1244$), 但延长了无进展生存(PFS: 1.68 mo vs 1.41 mo, HR = 0.66, $P = 0.0001$), 6 mo疾病控制率分别为12.0%和4.3%, ORR分别为4.5%和2.1%, 最常见的3/4度不良反应为贫血(16.0% vs 12.6%)、食欲下降(11.0% vs 5.6%)、乏力(7.8% vs 5.1%)。

GRANITE-1研究中, 依维莫司治疗进展期胃癌尽管未能达到主要研究终点, 但PFS的改善仍提示分子靶向药物治疗胃癌具潜在前景。进一步分析mTOR相关下游基因的表达与疗效的相关性对筛选mTOR抑制剂适合的治疗人群可能有重要的价值。

2.2 吉非替尼 吉非替尼是一类口服EGFR酪氨酸激酶抑制剂, 已在多种肿瘤治疗的临床研究中显示出疗效。

2003年Doi等^[27]报道了第一项吉非替尼二线治疗晚期胃癌的 II 期临床研究结果, 共纳入75例晚期胃癌和胃食管连接部癌患者, 给予吉非替尼250 mg或500 mg口服治疗, 结果显示: 13例患者病情得到控制, 其中有1例患者达到了PR, mTTP为1.2 mo, mOS为3.5 mo, 不良反应主要为腹泻、皮疹和厌食。另一项 II 期临床试验研究吉非替尼治疗难治性食管癌和胃食管交界腺癌, 58例患者口服吉非替尼250 mg, 至少8 wk, 结果显示4例(7%)患者部分有效、10例(17%)患者达到疾病稳定, 中位总生存期为5.5 mo, 中位临床受益时间为6.1 mo, 说明吉非替尼对难治性食管癌和胃食管连接部癌的疗效有限。

Rojo等^[28]对入组临床研究的32例晚期胃癌患者病理活检, 对比入组时及治疗28 d后EGFR的变化, 发现吉非替尼治疗后, 患者EGFR的磷酸化状态显著下降, 细胞增殖受到明显抑制。研究者认为对增殖的抑制更多依赖于下游的Akt磷酸化水平, 由此表明吉非替尼的耐药性可能是通过信号传导通路下游的PI3-Akt通路所介导。

2.3 厄洛替尼 厄洛替尼也是一种口服EGFR酪氨酸激酶抑制剂, 主要用于非小细胞肺癌的治疗。SWOG0127研究并未给晚期胃癌患者带来好消息^[29]。该研究共纳入70例晚期胃癌或胃食管连接部癌的患者, 口服厄洛替尼, 150 mg/d, 4 wk为1周期, 结果显示: 胃食管连接部癌患者44例, 总有效率为12%(1例CR, 3例PR), 中位生存期为6.7 mo; 胃癌中未发现有效病例, 中位生存期为3.5 mo; 常见的不良反应为皮疹、腹泻、疲劳和肝功损害。研究提示厄洛替尼可能对胃食管交界处腺癌或食管癌具有较好的临床治疗价值, 而对胃癌无明显治疗效果。目前为止单用EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗晚期胃癌未显示出明显优势。

2.4 拉帕替尼 拉帕替尼是一种抑制EGFR和HER-2双靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂, 能透过血脑屏障。目前主要对曲妥珠单抗耐药的HER-2过表达的乳腺癌患者。约15%-45%胃癌患

者过度表达EGFR和HER-2, 因此拉帕替尼可能对胃癌具有潜在治疗价值。

2007年报道了首项拉帕替尼一线治疗晚期胃癌的Ⅱ期临床研究^[30], 47例晚期胃癌患者给予拉帕替尼1500 mg/d, 结果显示: 5(11%)例达到PR, SD 10例(23%), TTF为1.9 mo, mOS为4.8 mo。不良反应包括1例心肌梗塞、1例中枢系统缺血导致的死亡。分子生物学指标的检测显示^[31]: IL-8低表达、HER-2高表达者预后更好($P = 0.03$); IL-8和VEGF的基因多态性是拉帕替尼治疗胃癌的疗效预测指标($P < 0.05$), 与患者的OS相关。研究者认为, 单药拉帕替尼在晚期胃癌中具有一定的疗效。

拉帕替尼联合卡培他滨治疗HER-2过表达的晚期胃癌的多中心Ⅱ期临床研究已开展, 前期的结果显示^[32]: 拉帕替尼联合卡培他滨治疗的ORR为22.4%, 45%的患者达到SD, 不良反应的发生率和严重度均较低, 显示拉帕替尼联合卡培他滨化疗治疗进展期胃癌有较好的有效性和耐受性。

XELOX方案(卡培他滨+奥沙利铂)加或不加拉帕替尼治疗Her-2阳性晚期胃癌的Ⅲ期研究也正在进行中, 其研究结果值得期待。

2.5 舒尼替尼 舒尼替尼是一种多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 对血小板衍生生长因子受体(PDGFR α 和PDGFR β)、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3和干细胞因子受体等均有抑制作用, 目前已被FDA批准用于肾细胞癌的和胃肠道间质瘤的治疗。

Bang等^[33]在2007年ASCO会议报道了舒尼替尼治疗晚期胃癌的Ⅱ期临床研究初步结果, 2010年公布了最终结果。共入组78例患者, 给予舒尼替尼治疗(50 mg/d, 连用4 wk, 每6 wk为1周期)。主要观察终点是ORR, 次要终点包括临床受益率、PFS、OS、安全性等。结果显示: 2例(2.6%)达到PR, 25例(32.1%)达到SD; mPFS为2.3 mo(95%CI: 1.6-2.6 mo), mOS为6.8 mo(95%CI: 4.4-9.6 mo); 3级及以上的不良反应为血小板减少和中性粒细胞减少, 分别为34.6%和29.4%, 常见的非血液学不良反应有乏力、厌食、恶心、腹泻、口腔炎。

2009年ASCO会议报道了另一项AIO开展的舒尼替尼单药治疗晚期胃癌的多中心Ⅱ期临床结果^[34], 方案仍为舒尼替尼50 mg/d, 连用4 wk, 停2 wk, 每6 wk为1周期。纳入52例患者, ORR为3.9%, mPFS为1.28 mo(95%CI:

1.18-1.90), mOS为5.81 mo(95%CI: 3.48-12.32), 1年生存率为23.7%(95%CI: 12.8-36.5), 未观察到舒尼替尼导致的严重不良反应。在亚组分析, 肿瘤VEGF-3高表达降低了中位PFS(1.23 mo与2.86 mo, $P = 0.0119$), 但与ORR无显著差异($P = 0.142$)。

两项Ⅱ期临床研究均认为: 舒尼替尼可延缓晚期胃癌进展且不良反应可耐受, 虽然单药作为二线治疗作用有限, 但其联合化疗值得进一步研究。

2.6 索拉非尼 索拉非尼是多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 能够抑制VEGFR、PDGFR、KIT、RAF等多种受体的酪氨酸激酶活性, 具有双重的抗肿瘤作用, 既可阻断RAF/MEK/ERK信号通路抑制肿瘤细胞的增殖, 还可通过作用于VEGFR抑制肿瘤血管生成。

2008年ASCO会议报道了一项令人鼓舞的Ⅱ期临床研究结果^[35]。研究者采用索拉非尼联合多西他赛/顺铂(索拉非尼, 400 mg, bid连续口服; 多西他赛75 mg/m², d1; 顺铂75 mg/m², d1; 每21 d为1周期)治疗晚期胃癌, 主要观察终点为ORR, 次要观察终点为OS、PFS、不良反应。结果显示: 44例患者纳入该研究, 18例患者表现为PR, RR达到41%(90%CI: 28%-54%), mOS为13.6 mo(90%CI: 8.6-16.1 mo), mPFS为5.8 mo(90%CI: 5.4-7.4 mo); 主要毒性是中性粒细胞减少, 26例患者(64%)达到了3-4级。

研究者认为: 索拉非尼治疗晚期胃癌有一定的临床效果, 但其安全性和有效性有待进一步临床验证。

2.7 Foretinib Foretinib是一种抑制c-MET和VEGFR2/KDR多靶点小分子口服药物。Shah等^[36]开展的一项多中心Ⅱ期临床研究证实Foretinib在晚期胃癌治疗中具有可行性、安全性。共入组74例患者, 93%先前接受过治疗, 随机分为间断给药(240 mg/d, 连用5 d, 14 d为1周期)或持续给药(80 mg/d, 连续服用)。结果显示: 最好的结果是SD, 间断给予组中10例(23%), 持续给药组中5例(20%); SD持续时间为1.9-7.2 mo(中位3.2 mo); FISH方法检测出胃癌中c-Met基因扩增率为4.5%(3/67例), 其中1例为SD; 所有表达高水平磷酸化MET(pMET)的患者, 经Foretinib治疗后, pMET与总MET的比例均下降; 91%的患者出现治疗相关不良反应, 表现为高血压(35% vs 15%)、肝功能异常(23% vs 8%)。研究者认为: 胃癌很少单独由MET和

VEGFR2调控,而是由多种不同的信号通路调控,尽管Foretinib可抑制c-MET基因表达,但单药Foretinib在未经选择的晚期胃癌中很难有确切的疗效。

3 其他靶向药物

3.1 硼替佐米 核转录因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路可刺激肿瘤细胞增殖、侵袭和转移,促进肿瘤发生。硼替佐米(Bortezomib, PS-341)是一种蛋白酶体抑制剂,能选择性抑制哺乳动物细胞内26S蛋白酶体的类胰凝乳蛋白酶活性,从而阻止泛素-蛋白酶体通路对I κ B的降解,抑制NF- κ B信号转导通路活化,促进细胞凋亡。目前硼替佐米主要用于治疗多发性骨髓瘤。

Shah等^[37]开展的一项II期临床研究未能证实单药硼替佐米对晚期胃癌有效。16例晚期胃癌患者纳入本研究,给予单药硼替佐米(1.3 mg/m², d1、4、8、11, 每21 d为1周期)治疗,结果显示:15例可评价患者中,均未达到客观有效(95%CI: 0%-22%),1例SD;14例患者表现为2度以上不良反应,主要为疲乏(6例),神经毒性(7例)。

2006年报道的一项多中心的II期临床研究中^[38],采用了硼替佐米联合伊立替康治疗晚期胃癌,共入组37例患者,初治患者给予两药联合方案(硼替佐米1.3 mg/m², d1、4、8、11;伊立替康 125 mg/m², d1、8;21 d为1周期),复治患者给予单药方案(硼替佐米1.3 mg/m², d1、4、8、11, 21 d为1周期),29例可进行疗效评价,联合组ORR明显高于单药组,分别为33%和9%;但联合组mOS为4.8 mo,单药组为5.4 mo, mPFS分别为1.8 mo和1.4 mo,不良反应为胃穿孔、贫血、白细胞减少。

基于以上2项II期临床研究结果,单用硼替佐米对晚期胃癌可能无效,不应进一步临床研究,蛋白酶抑制剂类药物应该考虑联合其他非重叠的致癌途径药物治疗胃癌。

3.2 Favopiridol 细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)是调控细胞周期的蛋白家族。研究表明肿瘤的发生、发展与CDK/cyclin的过表达或内源性抑制因子表达下降有关。Favopiridol是一种源于植物的半合成黄酮类CDK抑制剂,主要通过抑制CDK1、CDK2、CDK4激酶活性来抑制细胞增殖。在胃癌的发生发展过程中,CDK的阳性表达率增高,可能参与胃癌的发病过程^[39]。

Schwartz等^[40]2001年报道了一项II期临床

研究, Favopiridol[50 mg/(m²·d), 连续输注72 h, 每2 wk为1周期]治疗晚期胃癌。16例患者中仅1例患者的肝脏转移灶有轻微疗效,其余均未显示有效,毒性反应发生率较高,疲乏为93%(3或4级为27%)、腹泻为73%(3或4级20%)、静脉血栓为33%;外周血单个核细胞进行的研究表明没有诱导细胞凋亡。研究者认为: Favopiridol给药72 h每14 d为1周期的方案,在胃癌的治疗是无效的,而且该药不良反应较大,可考虑与其他药物联合应用。

2009年的一项I期临床研究显示^[41], Flavopiridol联合FOLFOX方案在晚期实体肿瘤中是安全可耐受的,建议针对不同肿瘤开展进一步研究。

3.3 马立马司他 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是由肿瘤细胞和宿主细胞分泌,具有锌指结构的蛋白水解酶,在细胞生长分化和修复过程中发挥重要作用。MMPs在肿瘤浸润转移过程中具有重要作用,可破坏正常组织,促进肿瘤细胞局部浸润扩散,启动血管生成。研究证实, MMP-2在胃癌中高表达,并与肿瘤进展和淋巴结转移相关^[42]。马立马司他(Marimastat, BB2516)是人工合成的口服MMPs抑制剂,其结构类似于间质组织胶原酶降解的胶原,能可逆的结合MMPs含锌离子的活性区,从而抑制其活性。马立马司他可抑制多种肿瘤细胞,但在临床研究中多以失败告终。

2002年Bramhall等^[43]报道的一项随机、双盲、安慰剂对照的III期临床研究为马立马司他提供了一丝曙光。该试验旨在研究马立马司他在胃癌维持治疗中的作用,该研究共纳入369例晚期胃癌患者,部分患者入组前接受过氟脲嘧啶类药物为基础的化疗,所有患者随机进入治疗组(Marimastat, 10 mg, 口服, 2次/d)和安慰剂组,主要研究终点是总生存期,次要终点疾病进展和生活质量。结果显示:治疗组的mOS较安慰剂组略延长(5.2 mo vs 4.5 mo, HR = 1.23, $P = 0.07$), PFS显著延长(HR = 1.32, $P = 0.009$), 2年生存率分别为9%和3%(HR = 1.27, $P = 0.024$)。接受过化疗的患者mOS获益明显(8.4 mo vs 5.8 mo, HR = 1.53, $P = 0.045$), 2年生存率明显提高(18% vs 5%, HR = 1.68, $P = 0.006$)。主要不良反应骨骼肌肉疼痛和强直是,与用药剂量有关,停药即可逆转。

马立马司他是第1个癌症患者获益的基质金属蛋白酶抑制剂,能够明显延长晚期胃癌患者

的mOS和PFS, 可耐受性好, 对接受过化疗的患者效果更加显著, 但需要更大规模二线、三线进展期胃癌治疗的临床试验。

3.4 伏立诺他 组蛋白的乙酰化状态调控DNA转录从而影响基因的表达水平。组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylase, HDAC)可降低组蛋白乙酰化, 引起DNA-组蛋白复合物压缩。这种压缩可以阻碍基因转录, 抑制细胞分化。HDAC抑制剂可以解除DNA-组蛋白复合物压缩, 从而促进肿瘤细胞生长停滞、分化及凋亡。伏立诺他是一种HDAC抑制剂, 目前用于治疗持续和复发或用两种全身性药物治疗后无效的皮肤T细胞淋巴瘤。Ree等^[44]2010年报道了一项伏立诺他联合姑息放疗治疗胃肠道肿瘤的I期临床研究, 认为伏立诺他安全性好, 联合放化疗治疗胃肠道肿瘤具有应用前景。

3.5 HSP90抑制剂 热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是机体在应激状态下合成的一组高度保守的蛋白质分子, 主要功能是维持细胞蛋白质稳定, 提高细胞对应激的耐受性, 增强抗氧化作用, 保持细胞正常的生理功能。HSP90是细胞内较为活跃, 参与调节肿瘤增殖和凋亡调控信号相关的分子构象, 在肿瘤细胞的增殖、药物耐受及抗凋亡信号通路活化等方面发挥重要作用^[45]。胃癌组织中HSP90表达率88%, 并且HSP90高表达者更易出现淋巴结转移, 预后更差^[46]。HSP90抑制剂在胃癌治疗中处于I期临床试验^[47], 尚无确切数据, 结果值得期待。

3.6 COX-2抑制剂 环氧化酶(cyclooxygenase, COX)是最重要的调节前列腺素合成, 催化花生四烯酸转化成前列腺素。荟萃分析显示长期使用非甾体类抗炎药可降低胃癌发生风险^[48]。塞来昔布是一种COX-2特异性抑制剂, 在3项食管癌的II期试验中显示出一定的疗效和安全性^[49-51], 期待进行胃癌的临床研究。

4 结论

胃癌的靶向药物研究之路崎岖坎坷。目前只有曲妥珠单抗通过ToGA试验获得认证, EX-PAND、AVAGAST、REAL-3等大型III期临床研究未取得总生存期的理想结果。究其原因, 可能存在人种、肿瘤部位、病理类型、分子靶点等因素未能完全纳入考虑。胃癌是一种异质性疾病, 发生发展过程中的信号通路错综复杂, 而靶向药物主要针对特异的靶点, 如何寻找主导作用的信号通路及更为特异的靶点将是靶向

治疗的研究重点。

随着胃癌分子生物学研究的不断进展, 靶向治疗已成为胃癌个体化治疗的重点, 胃癌的预后和疗效预测的生物标志物不需要不断探索的课题。在推广和实践胃癌的多学科、规范化、个体化的治疗方面, 仍需要靶向药物的积极参与, 有待更多III期临床研究的循证医学证据的支持。

5 参考文献

- 1 Moehler M, Mueller A, Trarbach T, Lordick F, Seufferlein T, Kubicka S, Geissler M, Schwarz S, Galle PR, Kanzler S. Cetuximab with irinotecan, folinic acid and 5-fluorouracil as first-line treatment in advanced gastroesophageal cancer: a prospective multi-center biomarker-oriented phase II study. *Ann Oncol* 2011; 22: 1358-1366 [PMID: 21119032 DOI: 10.1093/annonc/mdq591]
- 2 Wöll E, Greil R, Eisterer W, Bechter O, Fridrik MA, Grünberger B, Zabernigg A, Mayrbäurl B, Russ G, Dlaske M, Obrist P, Thaler J. Oxaliplatin, irinotecan and cetuximab in advanced gastric cancer. A multicenter phase II trial (Gastric-2) of the Arbeitsgemeinschaft Medikamentöse Tumortherapie (AGMT). *Anticancer Res* 2011; 31: 4439-4443 [PMID: 22199312]
- 3 Yeh K, Hsu C, Lin C, Shen Y, Wu S, Chiou T, Chao Y, Cheng A. Phase II study of cetuximab plus weekly cisplatin and 24-hour infusion of high-dose 5-fluorouracil and leucovorin for the first-line treatment of advanced gastric cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: abstr 4567
- 4 Pinto C, Di Fabio F, Barone C, Siena S, Falcone A, Cascinu S, Rojas Llimpe FL, Stella G, Schinzari G, Artale S, Mutri V, Giaquinta S, Giannetta L, Bardelli A, Martoni AA. Phase II study of cetuximab in combination with cisplatin and docetaxel in patients with untreated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (DOCETUX study). *Br J Cancer* 2009; 101: 1261-1268 [PMID: 19773760 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605319]
- 5 van Grieken NC, Aoyama T, Chambers PA, Bottomley D, Ward LC, Inam I, Buffart TE, Das K, Lim T, Pang B, Zhang SL, Tan IB, Carvalho B, Heide-man DA, Miyagi Y, Kameda Y, Arai T, Meijer GA, Tsuburaya A, Tan P, Yoshikawa T, Grabsch HI. KRAS and BRAF mutations are rare and related to DNA mismatch repair deficiency in gastric cancer from the East and the West: results from a large international multicentre study. *Br J Cancer* 2013; 108: 1495-1501 [PMID: 23511561 DOI: 10.1038/bjc.2013.109]
- 6 Enzinger PC, Burtneß B, Hollis D. CALGB 80403/ECOG1206: A randomized phase II study of three standard chemotherapy regimens (ECF, IC, FOLF-FOX) plus cetuximab in metastatic esophageal and GE junction cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: abstr 4006 [Meeting Abstracts]
- 7 Dell'Anna L, Morosini L. A computer-based method for the hematocrit effect correction in blood viscosity measurement. *Clin Chem* 1987; 33: 1071-1072 [PMID: 3594786 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70102-5]
- 8 Lordick F, Leon-Chong J, Kang Y, et al. Her-2 status of advanced gastric cancer is similar in Europe and Asia. *Ann Oncol* 2007; 18(Suppl 7): 253

- 9 Grávalos C, Gómez-Martín C, Rivera F, Alés I, Queralt B, Márquez A, Jiménez U, Alonso V, García-Carbonero R, Sastre J, Colomer R, Cortés-Funes H, Jimeno A. Phase II study of trastuzumab and cisplatin as first-line therapy in patients with HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer. *Clin Transl Oncol* 2011; 13: 179-184 [PMID: 21421462 DOI: 10.1007/s12094-011-0637-6]
- 10 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 11 Shah MA, Ramanathan RK, Ilson DH, Levrnor A, D'Adamo D, O'Reilly E, Tse A, Trocola R, Schwartz L, Capanu M, Schwartz GK, Kelsen DP. Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5201-5206 [PMID: 17114652 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.0887]
- 12 El-Rayes BF, Zalupski M, Bekai-Saab T, Heilbrun LK, Hammad N, Patel B, Urba S, Shields AF, Vaishampayan U, Dawson S, Almhanna K, Smith D, Philip PA. A phase II study of bevacizumab, oxaliplatin, and docetaxel in locally advanced and metastatic gastric and gastroesophageal junction cancers. *Ann Oncol* 2010; 21: 1999-2004 [PMID: 20332133 DOI: 10.1093/annonc/mdq065]
- 13 Shah MA, Jhawer M, Ilson DH, Lefkowitz RA, Robinson E, Capanu M, Kelsen DP. Phase II study of modified docetaxel, cisplatin, and fluorouracil with bevacizumab in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 868-874 [PMID: 21189380 DOI: 10.1200/JCO.2010.32.0770]
- 14 Enzinger P, Fidias P, Meyerhardt J, et al. Phase II study of bevacizumab and docetaxel in metastatic esophageal and gastric cancer. *ASCO* 2006; 68 [Meeting Abstracts]
- 15 Peinert S, Arnold D, Siewczynski R, et al. BECAM: a salvage protocol with bevacizumab, capecitabine, mitomycin C for patients with refractory metastatic colorectal cancer (CRC) or gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* 2006; 24: abstr 13554
- 16 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976 [PMID: 21844504 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.2236]
- 17 Waddell T, Chau I, Cunningham D, Gonzalez D, Okines AF, Okines C, Wotherspoon A, Saffery C, Middleton G, Wadsley J, Ferry D, Mansoor W, Crosby T, Coxon F, Smith D, Waters J, Iveson T, Falk S, Slater S, Peckitt C, Barbachano Y. Epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without panitumumab for patients with previously untreated advanced oesophagogastric cancer (REAL3): a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 481-489 [PMID: 23594787 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70096-2]
- 18 Trarbach T, Przyborek M, Schleucher N, Heeger S, Lüpfer C, Vanhoefer U. Phase I study of matuzumab in combination with 5-fluorouracil, leucovorin and cisplatin (PLF) in patients with advanced gastric and esophagogastric adenocarcinomas. *Invest New Drugs* 2013; 31: 642-652 [PMID: 22763610 DOI: 10.1007/s10637-012-9848-0]
- 19 Rao S, Starling N, Cunningham D, Sumpter K, Gilligan D, Ruhstaller T, Valladares-Ayerbes M, Wilke H, Archer C, Kurek R, Beadman C, Oates J. Matuzumab plus epirubicin, cisplatin and capecitabine (ECX) compared with epirubicin, cisplatin and capecitabine alone as first-line treatment in patients with advanced oesophago-gastric cancer: a randomised, multicentre open-label phase II study. *Ann Oncol* 2010; 21: 2213-2219 [PMID: 20497967 DOI: 10.1093/annonc/mdq247]
- 20 Rao S, Starling N, Cunningham D, Benson M, Wotherspoon A, Lüpfer C, Kurek R, Oates J, Baselga J, Hill A. Phase I study of epirubicin, cisplatin and capecitabine plus matuzumab in previously untreated patients with advanced oesophagogastric cancer. *Br J Cancer* 2008; 99: 868-874 [PMID: 19238629 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604622]
- 21 Matsubara J, Yamada Y, Hirashima Y, Takahara D, Okita NT, Kato K, Hamaguchi T, Shirao K, Shimada Y, Shimoda T. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3022-3029 [PMID: 18483367 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 22 Jiang Y, Wang L, Gong W, Wei D, Le X, Yao J, Ajani J, Abbruzzese JL, Huang S, Xie K. A high expression level of insulin-like growth factor I receptor is associated with increased expression of transcription factor Sp1 and regional lymph node metastasis of human gastric cancer. *Clin Exp Metastasis* 2004; 21: 755-764 [PMID: 16035620 DOI: 10.1007/s10585-005-1198-2]
- 23 Attard G, Fong PC, Molife R, et al. Phase I trial involving the pharmacodynamic (PD) study of circulating tumour cells, of CP-751, 871, a monoclonal antibody against the insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R), with docetaxel (D) in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2006; 22: abstr 14
- 24 Vignot S, Faivre S, Aguirre D, Raymond E. mTOR-targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives. *Ann Oncol* 2005; 16: 525-537 [PMID: 15728109 DOI: 10.1093/annonc/mdi113]
- 25 Doi T, Muro K, Boku N, Yamada Y, Nishina T, Takiuchi H, Komatsu Y, Hamamoto Y, Ohno N, Fujita Y, Robson M, Ohtsu A. Multicenter phase II study of everolimus in patients with previously treated metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1904-1910 [PMID: 20231677 DOI: 10.1200/JCO.2009.26.2923]
- 26 Van Cutsem E, Yeh K-H, Bang Y-J, et al. Phase III trial of everolimus in previously treated patients with advanced gastric cancer: GRANITE-1. *J Clin Oncol* 2012; 30(Suppl4): abstr LBA3
- 27 Doi T, Koizumi W, Siena S, et al. Efficacy, tolerability, pharmacokinetics of gefitinib (ZD1839) in pretreated patients with metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003; 22: 258
- 28 Rojo F, Tabernero J, Albanell J, Van Cutsem E, Ohtsu A, Doi T, Koizumi W, Shirao K, Takiuchi H, Ramon y Cajal S, Baselga J. Pharmacodynamic studies of gefitinib in tumor biopsy specimens from patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin*

- Oncol* 2006; 24: 4309-4316 [PMID: 16963731 DOI: 10.1200/JCO.2005.04.2424]
- 29 Dragovich T, McCoy S, Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Benedetti JK, Baker AF, Hackett CB, Urba SG, Zaner KS, Blanke CD, Abbruzzese JL. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4922-4927 [PMID: 17050876 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.1316]
 - 30 Iqbal S, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Lenz HJ, Zhang W, Danenberg KD, Shibata SI, Blanke CD. Southwest Oncology Group study S0413: a phase II trial of lapatinib (GW572016) as first-line therapy in patients with advanced or metastatic gastric cancer. *Ann Oncol* 2011; 22: 2610-2615 [PMID: 21415234 DOI: 10.1093/annonc/mdr021]
 - 31 Chang H, Azuma M, Goldman B, et al. Gene expression levels of HER2 and IL-8 and polymorphism in IL-8 associated with clinical outcome in advanced or metastatic gastric cancer treated with lapatinib in SWOG 0413 trial. *J Clin Oncol* 2007; 25: 464 [Meeting Abstracts]
 - 32 Pishvaian M, Sakaeva D, Hsieh RK, et al. A global, multicenter phase trial of lapatinib plus capecitabine in gastric cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: A88 [Meeting Abstracts]
 - 33 Bang YJ, Kang YK, Kang WK, Boku N, Chung HC, Chen JS, Doi T, Sun Y, Shen L, Qin S, Ng WT, Tursi JM, Lechuga MJ, Lu DR, Ruiz-Garcia A, Sobrero A. Phase II study of sunitinib as second-line treatment for advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1449-1458 [PMID: 20461441 DOI: 10.1007/s10637-010-9438-y]
 - 34 Moehler M, Mueller A, Hartmann JT, Ebert MP, Al-Batran SE, Reimer P, Weihrauch M, Lordick F, Trarbach T, Biesterfeld S, Kabisch M, Wachtlin D, Galle PR. An open-label, multicentre biomarker-oriented AIO phase II trial of sunitinib for patients with chemo-refractory advanced gastric cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1511-1520 [PMID: 21561763 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.04.006]
 - 35 Sun W, Powell M, O'Dwyer PJ, Catalano P, Ansari RH, Benson AB. Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2947-2951 [PMID: 20458043 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.7988]
 - 36 Shah MA, Wainberg ZA, Catenacci DV, Hochster HS, Ford J, Kunz P, Lee FC, Kallender H, Cecchi F, Rabe DC, Keer L, Martin AM, Liu Y, Gagnon R, Bonate P, Liu L, Gilmer T, Bottaro DP. Phase II study evaluating 2 dosing schedules of oral foretinib (GSK1363089), cMET/VEGFR2 inhibitor, in patients with metastatic gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e54014 [PMID: 23516391 DOI: 10.1371/journal.pone.0054014]
 - 37 Shah MA, Power DG, Kindler HL, Holen KD, Kemeny MM, Ilson DH, Tang L, Capanu M, Wright JJ, Kelsen DP. A multicenter, phase II study of bortezomib (PS-341) in patients with unresectable or metastatic gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1475-1481 [PMID: 20574790 DOI: 10.1007/s10637-010-9474-7]
 - 38 Ocean AJ, Schnoll-Sussman F, Keresztes R. Phase II study of PS-341 (bortezomib) with or without irinotecan in patients(pts) with advanced gastric adenocarcinomas (AGA). *J Clin Oncol* 2006; 24: abstr a14040
 - 39 Senderowicz AM. Small molecule modulators of cyclin-dependent kinases for cancer therapy. *Oncogene* 2000; 19: 6600-6606 [PMID: 11426645 DOI: 10.1038/sj.onc.1204085]
 - 40 Schwartz GK, Ilson D, Saltz L, O'Reilly E, Tong W, Maslak P, Werner J, Perkins P, Stoltz M, Kelsen D. Phase II study of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol administered to patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1985-1992 [PMID: 11283131]
 - 41 Rathkopf D, Dickson MA, Feldman DR, Carvajal RD, Shah MA, Wu N, Lefkowitz R, Gonen M, Cane LM, Dials HJ, Winkelmann JL, Bosl GJ, Schwartz GK. Phase I study of flavopiridol with oxaliplatin and fluorouracil/leucovorin in advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 7405-7411 [PMID: 19934304 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1502]
 - 42 Mönig SP, Baldus SE, Henneken JK, Spiecker DB, Grass G, Schneider PM, Thiele J, Dienes HP, Hölscher AH. Expression of MMP-2 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma. *Histopathology* 2001; 39: 597-602 [PMID: 11903578 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2001.01306.x]
 - 43 Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, Scholefield J, Tierney G, Stuart RC, Hawkins RE, McCulloch P, Maughan T, Brown PD, Baillet M, Fielding JW. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002; 86: 1864-1870 [PMID: 12085177 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600310]
 - 44 Ree AH, Dueland S, Folkvord S, Hole KH, Seierstad T, Johansen M, Abrahamsen TW, Flatmark K. Vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, combined with pelvic palliative radiotherapy for gastrointestinal carcinoma: the Pelvic Radiation and Vorinostat (PRAVO) phase 1 study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 459-464 [PMID: 20378407 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70058-9]
 - 45 Tsutsumi S, Neckers L. Extracellular heat shock protein 90: a role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. *Cancer Sci* 2007; 98: 1536-1539 [PMID: 17645779 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00561.x]
 - 46 Zuo DS, Dai J, Bo AH, Fan J, Xiao XY. Significance of expression of heat shock protein90alpha in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2616-2618 [PMID: 14606110]
 - 47 Giaginis C, Daskalopoulou SS, Vgenopoulou S, Sfiniadakis I, Kouraklis G, Theocharis SE. Heat Shock Protein-27, -60 and -90 expression in gastric cancer: association with clinicopathological variables and patient survival. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 14 [PMID: 19203381 DOI: 10.1186/1471-230X-9-14]
 - 48 Wang WH, Huang JQ, Zheng GF, Lam SK, Karlberg J, Wong BC. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and the risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1784-1791 [PMID: 14652240 DOI: 10.1093/jnci/djg106]
 - 49 Govindan R, McLeod H, Mantravadi P, Fineberg N, Helft P, Kesler K, Hanna N, Stoner C, Ansari R, Fox E. Cisplatin, fluorouracil, celecoxib, and RT in resectable esophageal cancer: preliminary results. *Oncology (Williston Park)* 2004; 18: 18-21 [PMID: 15685829]
 - 50 Dawson SJ, Michael M, Biagi J, Foo KF, Jefford M, Ngan SY, Leong T, Hui A, Milner AD, Thomas RJ, Zalcborg JR. A phase I/II trial of celecoxib with

chemotherapy and radiotherapy in the treatment of patients with locally advanced oesophageal cancer. *Invest New Drugs* 2007; 25: 123-129 [PMID: 17053988]

DOI: 10.1007/s10637-006-9016-5
Enzinger P, Mamon H, Choi N. Phase II cisplatin, irinotecan, celecoxib and concurrent radiation therapy followed by surgery for locally advanced esophageal cancer. In: *Proc GI ASCO*, 2004: 35

编辑 黄新珍 电话



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

• 消息 •

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

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

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

(总编辑: 马连生2011-05-30)

HBx与肝细胞癌发病机制的研究进展

段昌虎, 邵升

段昌虎, 邵升, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科 黑龙江省哈尔滨市 150086

段昌虎, 主要从事肝胆胰脾外科的研究.

作者贡献分布: 本文综述由段昌虎完成; 邵升负责审核.

通讯作者: 邵升, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科.

taisheng73@gmail.com

电话: 0451-86605356

收稿日期: 2013-05-31 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-08-28

Role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis

Chang-Hu Duan, Sheng Tai

Chang-Hu Duan, Sheng Tai, Department of General Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Sheng Tai, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. taisheng73@gmail.com

Received: 2013-05-31 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-08-28

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer in the world and the third most common cause of cancer-related death. Chronic hepatitis B virus (HBV) infection has been identified as a major risk factor for HCC. Evidence suggests that the HBV X protein (HBx) plays a crucial role in the carcinogenesis of HCC. HBx is a multifunctional regulator that plays a key role in the occurrence, development, invasion and metastasis of cancers. Due to its important roles in the development of HCC, the research on the HBx protein has become a hot topic in recent years. This review describes the latest advances in understanding the role of the HBx protein in hepatocarcinogenesis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Hepatitis B virus X protein; Hepatocellular carcinoma

Duan CH, Tai S. Role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2397-2402 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2397.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2397>

摘要

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位于所有癌症的第5位, 死亡率为所有癌症的第3位, 严重威胁着人类健康. 在诱发HCC的众多因素中, 乙型肝炎病毒(hepatitis virus, HBV)感染占到5%以上. 随着对HBV和HCC研究的深入, 人们发现HBV中的x基因表达产物(hepatitis B virus X protein, HBx)蛋白是一种多功能的调节蛋白, 具有广泛的反式激活功能, 在肝癌的发生、发展到侵袭转移中, 发挥着不可忽视的作用, 成为近年来研究的热点, 本文就近年来对HBx研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎病毒x蛋白; 肝细胞癌

核心提示: 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染是诱发原发性肝癌的主要原因之一, 乙型肝炎病毒x基因的表达产物乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)能通干扰宿主细胞转录, 信号转导, 细胞周期, 蛋白质分解, DNA修复, 细胞凋亡和染色体的稳定性等引起肝癌的发生, 同时参与肿瘤侵袭与转移. HBx蛋白在肝癌发生中扮演的角色及其作用机理成为HBV相关肝癌研究的热点内容.

段昌虎, 邵升. HBx与肝细胞癌发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(24): 2397-2402 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2397.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2397>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位于所有癌症的第5位, 死亡率为所有癌症的

■背景资料

肝细胞癌其发病率和死亡率居高不下. 我国肝癌以乙型肝炎病毒(hepatitis virus, HBV)相关的肝癌患者所占比例较大, 如何提高HBV相关肝癌早期诊断率是亟待解决的难题, 乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)在乙型肝炎相关的肝癌的发生发展过程中起着重要作用, 成为研究热点之一.

■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■ 研发前沿

HBV中的x基因表达产物HBx蛋白是一种多功能的调节蛋白,具有重要功能,在肝癌的发生、发展以及侵袭转移中,发挥着不可忽视的作用。

第3位,严重威胁着人类健康^[1,2],在过去的几十年人们对其进行了一系列流行病学和实验研究,确定了HCC与乙型肝炎病毒(hepatitis virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HCV)、黄曲霉毒素、饮酒等很多因素有关^[3,4]。其中50%-55%的HCC发生是由于持续的HBV感染引起,在流行地区高达70%-80%肝癌是由HBV感染引起^[5,6]。在HBV的所有基因组中,HBx通过干扰宿主细胞转录、信号转导、细胞周期、蛋白质分解、DNA修复、细胞凋亡和染色体的稳定性等引起肝癌的发生^[7-10],同时HBx通过影响肝肿瘤细胞的迁移能力促进肿瘤的侵袭与转移。本文就近年来对于HBx研究的进展作一综述。

1 HBx的结构与生物学效应

HBV基因组大约32 kb,具有4个相互重叠的开放读码框架(ORF): S区、C区、P区、X区,分别编码HBsAg、HBcAg、DNAP和HBx,其中X-ORF在N端和P-ORF部分重叠,在C端和前C-ORF部分重叠^[11]。HBx基因是HBV基因组中最小的开放读码框,其编码基因位于第1376-1837位核苷酸之间,所编码的HBx蛋白由154个氨基酸组成,分子量约为17 kDa^[12]。随着对HBV和原发性肝癌研究的深入,人们发现x基因表达的蛋白HBx在HBV相关的肝癌的发生发展中扮演重要角色^[4,13,14]。

HBx在HCC的形成中起主导作用,早期体外实验研究证实:将HBx导入小鼠的肝细胞中,可引起肝细胞的恶性转化^[15,16];将HBx基因转入小鼠体内,可干扰正常肝细胞生长,诱发转基因小鼠肝癌形成,使肝癌发生率至少增加10倍;缩短了HCC发生的潜伏期;增加了促癌剂致肝癌的形成率。人群调查发现,早期肝癌形成过程中,HBx发挥着重要作用^[17];HBx抗体在肝癌患者中比患有乙型肝炎而未发生肝癌患者中表达量要高;另外大量文献报道HBV相关的肝癌发生过程中,HBV整合入宿主细胞的过程中HBx整合入宿主是最重要的一步,且HBV相关的肝癌患者定期检查发现HBx检出率及稳定性是最高的,提示HBx在肝癌形成中发挥重要作用^[18]。

2 HBx的反式激活机制

HBx在肝细胞内的分布与其蛋白表达水平密切相关,低表达时主要分布在细胞核,高表达时多聚集在胞浆。HBx不具有结合双链DNA的能力,但可通过蛋白-蛋白间相互作用发挥其反式转录

活性^[19]。HBx通过各种信号通路,包括Ras/Raf有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK),蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)^[20],核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB),应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinases, SAPK)/c-Jun氨基末端激酶(jun n-terminal kinases, JNK),磷脂酰肌醇激酶3(phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)以及Janus激酶(janus kinase, JAK)/信号转导和转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)^[21]等各种不同的信号通路,促进癌症的发生。

2.1 HBx与NF-κB NF-κB是一种分布及作用十分广泛的真核细胞转录因子,HBx通过多种途径激活NF-κB信号通路^[22,23],激活的NF-κB从胞质转入核内,启动核内靶基因的转录,调节诸如cyclin D1^[24], Calpain Small Subunit 1^[25], MTA1^[26,27]等一些肝癌相关因子的表达,从而抑制细胞凋亡,促进肿瘤细胞存活、增殖及恶性转化,与肝癌的发生发展关系密切。

2.2 Ras-Raf MAPK信号通路 Ras-Raf MAPK信号通路(膜受体络氨酸蛋白激酶信号传递途径)在肝癌形成过程中起着重要作用^[28]。在该通路中,HBx激活Src激酶,从而激活Ras,刺激合成Ras-GTP复合物,促使Raf磷酸化而活化,活化的Raf通过一系列反应激活MAPK, MAPK进一步活化AP-1、NF-κB、AP-2等多种转录因子,导致肝癌的发生。同时有文献报道HBx介导的Ras-Raf MAPK信号通路也与细胞周期密切相关,导静止期的细胞脱离G₀期,重返细胞周期,可以降低细胞循环周期,刺激细胞增殖。

2.3 PKC信号通路 PKC是一个磷脂依赖性激酶的大家族,这些激酶参与细胞生长、分化、凋亡、癌变^[29,30]。野生型或突变的PKC的过度表达可导致无序细胞生长和转化。HBx能够增加内源性PKC的水平,随后激活AP-1和NF-κB转录因子。有证据表明,HBx激活NF-κB是一个PKC依赖过程。HBx也可能通过增加内源性激活因子Sn-1, 2-DAG短暂地激活PKC。最近发现HBx蛋白能与XAP3(一种PKC结合蛋白)和PKC发生相互作用,从而加速HBx的磷酸化,增加PKC的自动磷酸化,上调HBx介导的转录激活。

2.4 JAK-STAT信号通路 JAK-STAT信号通路是近年发现的一条由细胞因子刺激的信号转导通路,参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等许多重要的生物学过程。有专家指出

在乙型肝炎相关的肝癌中STAT3及STAT5过表达, 进一步研究发现HBx通过激酶JAK持续激活STAT蛋白, 从而导致肝癌的发生^[31,32]. 有文献报道HBx可以通过下调miRNA Let-7a的表达来上调STAT的表达^[33]. 同时有学者指出HBx可形成二聚体与JAK发生对接, 从而激活JAK, 激活的JAK可活化AP-1、NF- κ B和SRE增强子, 发挥刺激转录活性的效应.

3 HBx和细胞凋亡的调控

细胞通过凋亡以清除老化的或未参与免疫反应的细胞, 如发生病理性干扰改变, 可对肿瘤生成起作用^[32]. 肝细胞的正常凋亡过程发生改变也与肝癌的发生发展密切相关. 关于HBx的表达对细胞凋亡的调控人们进行了大量研究, 但这些研究的结论多种多样, 有研究表明HBx可以促进凋亡^[34-36], 也有研究得出相反观点, 认为HBx可以抗凋亡^[37,38], 还有学者认为HBx对凋亡影响不大.

3.1 HBx促凋亡作用 尽管HBx自身并不能激活细胞凋亡通路, 但是体内及体外实验证实: HBx通过caspase3级联效应, 加速氧化应激状态下MCL-1蛋白的表达缺失发挥促凋亡作用, 导致肝癌的发生^[39]. 同样有文献报道了HBx通过增加Bax易位于线粒体, 使得线粒体膜电位缺失而去极化, 导致细胞色素C的释放增加, 发挥促凋亡效应^[40]. 国外学者也报道了HBx通过维生素K3介导, 使得线粒体膜去极化发挥促凋亡作用. 大量实验表明, Fas-FasL系统、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)-TNFR等介导引发肝内细胞凋亡. HBx诱导FasL表达, 激活并上调了TNF- α 的表达, 诱发肝细胞凋亡.

3.2 HBx抗凋亡作用 文献报道HBx可以调节非caspase依赖途径的两个蛋白^[37]: 凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)和AIF同源的AMID(mitochondrion-associated inducer of death), 通过免疫共沉淀技术发现HBx与AIF及AMID共同存在于细胞之中, HBx可以减少AIF及AMID介导的细胞凋亡发挥抗凋亡作用, 同时作者提出这种抗凋亡作用还与HBx抑制AIF线粒体-细胞核易位有关. 国内有学者报道HBx可以通过下调促凋亡因子miR192的表达水平来发挥抗细胞凋亡的功能^[38]. 通过对原代培养的大鼠肝细胞研究发现HBx加剧NF- κ B抗细胞凋亡的作用^[41]; 然而, 当HBx诱导的NF- κ B抗细胞凋亡途径被阻断时, 线粒体通透性转换孔的活性发生改变, HBx可促细胞凋亡. 可以发现HBx的促

凋亡或抗凋亡功能的改变与NF- κ B密切相关. 综合来看, HBx与凋亡的两种相互矛盾的结论可能都是不同的研究中或不同细胞系中细胞是否过度表达所导致的结果有关, 另一方面我们发现这些机制大都与线粒体有一定关系, 为我们下一步研究凋亡与肝细胞癌的发生提供了一定思路.

4 HBx调控的DNA修复

p53具有促进细胞凋亡、修复DNA损伤、维持细胞基因组稳定性等多种功能, 是维持细胞和机体稳定的重要基因之一, 其缺失或突变许多癌症发生密切相关^[42-44]. 文献报道p53的突变及多态性对肝细胞癌的形成有着重要作用^[45]. HBx抑制P53的DNA修复功能可能包括以下几种机制: (1)在HBV感染的早期, HBx通过不依赖P53途径促进肝细胞的凋亡; 随着肝细胞破坏及再生反复进行, 由于HBx与P53蛋白的相互作用, 导致P53调节DNA修复功能的缺陷, 使受损细胞能顺利通过G₀、G₁期进入DNA合成和分裂期; (2)HBx与P53的结合抑制了P53与DNA修复蛋白XPB、XPD的结合; (3)HBx通过环氧合酶2(COX-2)/PGE2通路诱导Mcl-1的表达, 来阻止P53的促凋亡作用^[46]; (4)HBx的C末端区域能与野生型的P53(wtp53)蛋白在胞浆中结合, 阻碍其进入细胞核内, 从而抑制P53的转录, 影响wtp53阻断异常细胞生长, 促使DNA修复的能力; (5)细胞在紫外线照射处理时, HBx蛋白表达量增高能引起P53蛋白高表达, 两者在胞核相互作用抑制P53对DNA的修复功能, 使细胞对紫外线损伤更加敏感.

5 HBx影响表观遗传学的作用

表观遗传学是与遗传学相对应的概念. 遗传学是指基于基因序列改变所致基因表达水平变化, 如基因突变、基因杂合丢失和微卫星不稳定等; 表观遗传学是基于非基因序列改变所致基因表达水平变化, 如DNA甲基化和染色质构象变化等. 近年来研究发现表观遗传学与癌症的发生密切相关^[47]. HBx介导的DNA甲基化改变和组蛋白修饰与肝癌的发生密切相关. HBx能够上调甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)的表达, 使得抑癌基因p16的启动子区超甲基化从而使P16表达下调, 导致癌症的发生^[48]. 同时有文献指出在HBV导致的肝细胞癌中HBx可以通过DNA甲基化下调P16的表达导致肝细胞癌的发生^[49]. HBx还能调节表观遗传学相关蛋白,

■相关报道

目前国内外关于HBx与肝癌相关的文献报道较多, 这些报道都是通过系统的实验室及临床研究所得出的结论, 所以对我临床工作有一定的指导作用.

■创新盘点

目前关于HBx与肝细胞癌的发生发展有相关性已经得到了公认,本文对HBx在肝癌形成过程中的作用,调控信号通路的参与以及肝癌的发生发展乃至转移机制作的最新进展进行了分析。

通过作用于组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs),激发在一些靶基因周围调节元件的表观遗传学修饰,诱导肝癌的发生^[50]。另外还有文献报道HBx可以通过调控HBV共价闭环环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)的表观遗传学改变来发挥促癌作用^[51]。由此认为HBx可通过表观遗传学的调控参与宿主基因和HBV基因的转录表达和复制能力。

6 HBx基因突变

新近研究发现肝癌患者组织及血清中存在着高频自发的HBx基因突变,提示HBx的突变与肝癌的发生发展可能有着重要关系^[52-54]。第382至401碱基对缺失的HBx突变体(HBxDelta127),可以通过活化固醇调节元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)来促进肿瘤细胞的生长^[55]。肝癌组织中羧基端突变的HBx可以使着丝粒蛋白A(centromere protein A, CENP-A)表达升高,而CENP-A在肝癌组织中的过表达与细胞恶性增殖相关^[53]。HBx突变与HCC相关性的研究提供了一个新的视角来研究HCC的发病机制。

7 HBx促进肝癌细胞的侵袭与转移

研究显示在许多肿瘤中,环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)及其产物过度表达^[56]。体内及体外实验中均证实HBx通过诱导膜基质金属蛋白酶-1和COX-2的表达可以促进肿瘤细胞的侵袭与转移。临床患乙型肝炎导致肝癌患者的资料回顾性研究发现,HBx上调基质金属蛋白酶的表达有助有肝癌的转移。这对我们临床工作中用于早期诊断及判断转移提供了一种新的思路。

8 结论

乙型肝炎相关的肝癌形成过程是一个多因素参与的复杂的过程,HBx基因在该过程中发挥了重要作用,然而关于HBx与肝癌发生发展机制研究结果并不一致,还存在较多分歧,因此,需要更多的综合研究,全面了解HBx蛋白在肝癌中的作用。此外,我们应结合体内和体外两方面的研究结果,联系临床肝癌发生的特点和病理特征,为临床乙型肝炎相关的肝癌防治策略的制定提供有力依据。

9 参考文献

- Cazzagon N, Trevisani F, Maddalo G, Giacomini A, Vanin V, Pozzan C, Del Poggio P, Rapaccini G, Di

- Nolfo AM, Benvegnù L, Zoli M, Borzio F, Giannini EG, Caturelli E, Chiaramonte M, Foschi FG, Cabibbo G, Felder M, Ciccarese F, Missale G, Svegliati Baroni G, Morisco F, Pecorelli A, Farinati F; for the ITA.LI.CA Group. Rise and fall of HCV-related hepatocellular carcinoma in Italy: a long-term survey from the ITA.LI.CA centres. *Liver Int* 2013 May 9. [Epub ahead of print] [PMID: 23758775 DOI: 10.1111/liv.12208]
- Fares N, Péron JM. [Epidemiology, natural history, and risk factors of hepatocellular carcinoma]. *Rev Prat* 2013; 63: 216-217, 220-222 [PMID: 23513788]
- Taneja SS. Re: Cancers with increasing incidence trends in the United States: 1999 through 2008. *J Urol* 2012; 188: 1120-1121 [PMID: 22971362 DOI: 10.1016/j.juro.2012.06.090]
- Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
- Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
- Bouchard MJ, Navas-Martin S. Hepatitis B and C virus hepatocarcinogenesis: lessons learned and future challenges. *Cancer Lett* 2011; 305: 123-143 [PMID: 21168955 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.11.014]
- Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication. *J Virol* 2010; 84: 2675-2686 [PMID: 20053744 DOI: 10.1128/JVI.02196-09]
- Ma J, Sun T, Park S, Shen G, Liu J. The role of hepatitis B virus X protein is related to its differential intracellular localization. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 583-588 [PMID: 21693548 DOI: 10.1093/abbs/gmr048]
- Tang H, Da L, Mao Y, Li Y, Li D, Xu Z, Li F, Wang Y, Tiollais P, Li T, Zhao M. Hepatitis B virus X protein sensitizes cells to starvation-induced autophagy via up-regulation of beclin 1 expression. *Hepatology* 2009; 49: 60-71 [PMID: 19065679 DOI: 10.1002/hep.22581]
- Xu J, Yun X, Jiang J, Wei Y, Wu Y, Zhang W, Liu Y, Wang W, Wen Y, Gu J. Hepatitis B virus X protein blunts senescence-like growth arrest of human hepatocellular carcinoma by reducing Notch1 cleavage. *Hepatology* 2010; 52: 142-154 [PMID: 20578140 DOI: 10.1002/hep.23613]
- Zhang H, Wu LY, Zhang S, Qiu LY, Li N, Zhang X, Zhang XZ, Shan CL, Ye LH, Zhang XD. Anti-hepatitis B virus X protein in sera is one of the markers of development of liver cirrhosis and liver cancer mediated by HBV. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009: 289068 [PMID: 19746176 DOI: 10.1155/2009/289068]
- Arzumanyan A, Reis HM, Feitelson MA. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 123-135 [PMID: 23344543 DOI: 10.1038/nrc3449]
- Neuveut C, Wei Y, Buendia MA. Mechanisms of HBV-related hepatocarcinogenesis. *J Hepatol* 2010; 52: 594-604 [PMID: 20185200 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.10.033]
- Benhenda S, Cougot D, Buendia MA, Neuveut C. Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis. *Adv Cancer Res* 2009; 103: 75-109 [PMID: 19854353 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.001]

- 10.1016/S0065-230X(09)03004-8]
- 15 Kim SY, Lee PY, Shin HJ, Kim do H, Kang S, Moon HB, Kang SW, Kim JM, Park SG, Park BC, Yu DY, Bae KH, Lee SC. Proteomic analysis of liver tissue from HBx-transgenic mice at early stages of hepatocarcinogenesis. *Proteomics* 2009; 9: 5056-5066 [PMID: 19813210 DOI: 10.1002/pmic.200800779]
- 16 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
- 17 Gong P, Zhang X, Zhang J, Zhang J, Luo H, Wang Z. Hepatitis B virus X protein in the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013; 18: 1256-1265 [PMID: 23747881]
- 18 Yuan W, Huang T, Yu J, Zeng L, Lian B, He Q, Li Y, Zhang X, Zhou F, Xie L. Comparative analysis of viral protein interaction networks in Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus infected HCC. *Biochim Biophys Acta* 2013 Jun 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23774196 DOI: 10.1016/j.bbapap.2013.06.002]
- 19 Tan YJ. Hepatitis B virus infection and the risk of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4853-4857 [PMID: 22171125 DOI: 10.3748/wjg.v17.i44.4853]
- 20 Hu CT, Cheng CC, Pan SM, Wu JR, Wu WS. PKC mediates fluctuant ERK-paxillin signaling for hepatocyte growth factor-induced migration of hepatoma cell HepG2. *Cell Signal* 2013; 25: 1457-1467 [PMID: 23524339 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.03.011]
- 21 Zhang Q, Gong R, Qu J, Zhou Y, Liu W, Chen M, Liu Y, Zhu Y, Wu J. Activation of the Ras/Raf/MEK pathway facilitates hepatitis C virus replication via attenuation of the interferon-JAK-STAT pathway. *J Virol* 2012; 86: 1544-1554 [PMID: 22114332 DOI: 10.1128/JVI.00688-11]
- 22 Zhang X, You X, Wang Q, Zhang T, Du Y, Lv N, Zhang Z, Zhang S, Shan C, Ye L, Zhang X. Hepatitis B virus X protein drives multiple cross-talk cascade loops involving NF- κ B, 5-LOX, OPN and Capn4 to promote cell migration. *PLoS One* 2012; 7: e31458 [PMID: 22355367 DOI: 10.1371/journal.pone.0031458]
- 23 Zhou Y, Wang S, Ma JW, Lei Z, Zhu HF, Lei P, Yang ZS, Zhang B, Yao XX, Shi C, Sun LF, Wu XW, Ning Q, Shen GX, Huang B. Hepatitis B virus protein X-induced expression of the CXC chemokine IP-10 is mediated through activation of NF- κ B and increases migration of leukocytes. *J Biol Chem* 2010; 285: 12159-12168 [PMID: 20164184 DOI: 10.1074/jbc.M109.067629]
- 24 Mukherji A, Janbandhu VC, Kumar V. HBx protein modulates PI3K/Akt pathway to overcome genotoxic stress-induced destabilization of cyclin D1 and arrest of cell cycle. *Indian J Biochem Biophys* 2009; 46: 37-44 [PMID: 19374252]
- 25 Zhang F, Wang Q, Ye L, Feng Y, Zhang X. Hepatitis B virus X protein upregulates expression of calpain small subunit 1 via nuclear factor- κ B/p65 in hepatoma cells. *J Med Virol* 2010; 82: 920-928 [PMID: 20419804 DOI: 10.1002/jmv.21753]
- 26 Lee MH, Na H, Na TY, Shin YK, Seong JK, Lee MO. Epigenetic control of metastasis-associated protein 1 gene expression by hepatitis B virus X protein during hepatocarcinogenesis. *Oncogenesis* 2012; 1: e25 [PMID: 23552838 DOI: 10.1038/oncsis.2012.26]
- 27 Bui-Nguyen TM, Pakala SB, Sirigiri RD, Xia W, Hung MC, Sarin SK, Kumar V, Slagle BL, Kumar R. NF- κ B signaling mediates the induction of MTA1 by hepatitis B virus transactivator protein HBx. *Oncogene* 2010; 29: 1179-1189 [PMID: 20010875 DOI: 10.1038/onc.2009.404]
- 28 Zhang Z, Miao L, Lv C, Sun H, Wei S, Wang B, Huang C, Jiao B. Wentilactone B induces G2/M phase arrest and apoptosis via the Ras/Raf/MAPK signaling pathway in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Cell Death Dis* 2013; 4: e657 [PMID: 23744357 DOI: 10.1038/cddis.2013.182]
- 29 Wagner-Britz L, Wang J, Kaestner L, Bernhardt I. Protein Kinase Ca and P-Type Ca Channel CaV2.1 in Red Blood Cell Calcium Signalling. *Cell Physiol Biochem* 2013; 31: 883-891 [PMID: 23817128 DOI: 10.1159/000350106]
- 30 Bai X, Wang J, Zhang L, Ma J, Zhang H, Xia S, Zhang M, Ma X, Guo Y, Rong R, Cheng S, Shu W, Wang Y, Leng J. Prostaglandin E2 receptor EP1-mediated phosphorylation of focal adhesion kinase enhances cell adhesion and migration in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2013; 42: 1833-1841 [PMID: 23525457 DOI: 10.3892/ijo.2013.1859]
- 31 Bock CT, Toan NL, Koeberlein B, Song le H, Chin R, Zentgraf H, Kandolf R, Torresi J. Subcellular mislocalization of mutant hepatitis B X proteins contributes to modulation of STAT/SOCS signaling in hepatocellular carcinoma. *Intervirology* 2008; 51: 432-443 [PMID: 19321929 DOI: 10.1159/000209672]
- 32 He P, Zhang D, Li H, Yang X, Li D, Zhai Y, Ma L, Feng G. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int J Mol Med* 2013; 31: 1017-1029 [PMID: 23483208 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1295]
- 33 Wang Y, Lu Y, Toh ST, Sung WK, Tan P, Chow P, Chung AY, Jooi LL, Lee CG. Lethal-7 is down-regulated by the hepatitis B virus x protein and targets signal transducer and activator of transcription 3. *J Hepatol* 2010; 53: 57-66 [PMID: 20447714 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.043]
- 34 Kim KH. [Pro-apoptotic function of hepatitis B virus X protein]. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 112-122 [PMID: 20606495 DOI: 10.3350/kjhep.2010.16.2.112]
- 35 Liang X, Liu Y, Zhang Q, Gao L, Han L, Ma C, Zhang L, Chen YH, Sun W. Hepatitis B virus sensitizes hepatocytes to TRAIL-induced apoptosis through Bax. *J Immunol* 2007; 178: 503-510 [PMID: 17182590]
- 36 Wang F, Xia X, Wang J, Sun Q, Luo J, Cheng B. Notch1 signaling contributes to the oncogenic effect of HBx on human hepatic cells. *Biotechnol Lett* 2013; 35: 29-37 [PMID: 22986536 DOI: 10.1007/s10529-012-1048-7]
- 37 Liu H, Yuan Y, Guo H, Mitchelson K, Zhang K, Xie L, Qin W, Lu Y, Wang J, Guo Y, Zhou Y, He F. Hepatitis B virus encoded X protein suppresses apoptosis by inhibition of the caspase-independent pathway. *J Proteome Res* 2012; 11: 4803-4813 [PMID: 22871131 DOI: 10.1021/pr2012297]
- 38 Xie QH, He XX, Chang Y, Jiang X, Lin JS. [HBx gene down-regulates miR-192 expression and inhibits apoptosis of human hepatoma cell line HepG2]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2011; 19: 857-860 [PMID: 22433310 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2011.11.015]

■应用要点

随着人们对HBx研究的深入, 对肝癌的发病机制可以得到更好的认识, 为HBV相关肝癌的早期防治研究有一定意义。

■同行评价

本文内容客观全面, 逻辑性较强, 较好地反映了国内外该领域的研究进展, 具有重要的临床指导意义和科学价值。

- 39 Hu L, Chen L, Yang G, Li L, Sun H, Chang Y, Tu Q, Wu M, Wang H. HBx sensitizes cells to oxidative stress-induced apoptosis by accelerating the loss of Mcl-1 protein via caspase-3 cascade. *Mol Cancer* 2011; 10: 43 [PMID: 21504623 DOI: 10.1186/1476-4598-10-43]
- 40 Kim HJ, Kim SY, Kim J, Lee H, Choi M, Kim JK, Ahn JK. Hepatitis B virus X protein induces apoptosis by enhancing translocation of Bax to mitochondria. *IUBMB Life* 2008; 60: 473-480 [PMID: 18481805 DOI: 10.1002/iub.68]
- 41 Clippinger AJ, Gearhart TL, Bouchard MJ. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in primary rat hepatocytes by regulating both NF-kappaB and the mitochondrial permeability transition pore. *J Virol* 2009; 83: 4718-4731 [PMID: 19279112 DOI: 10.1128/JVI.02590-08]
- 42 Vlatković N, Boyd MT, Rubbi CP. Nucleolar control of p53: a cellular Achilles' heel and a target for cancer therapy. *Cell Mol Life Sci* 2013 May 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23685903 DOI: 10.1007/s00018-013-1361-x]
- 43 Jebelli JD, Hooper C, Garden GA, Pocock JM. Emerging roles of p53 in glial cell function in health and disease. *Glia* 2012; 60: 515-525 [PMID: 22105777 DOI: 10.1002/glia.22268]
- 44 Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 275-283 [PMID: 17380161 DOI: 10.1038/nrm2147]
- 45 Yoon YJ, Chang HY, Ahn SH, Kim JK, Park YK, Kang DR, Park JY, Myoung SM, Kim do Y, Chon CY, Han KH. MDM2 and p53 polymorphisms are associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1192-1196 [PMID: 18390844 DOI: 10.1093/carcin/bgn090]
- 46 Lim W, Kwon SH, Cho H, Kim S, Lee S, Ryu WS, Cho H. HBx targeting to mitochondria and ROS generation are necessary but insufficient for HBV-induced cyclooxygenase-2 expression. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 359-369 [PMID: 19940973 DOI: 10.1007/s00109-009-0563-z]
- 47 Zaidi SK, Van Wijnen AJ, Lian JB, Stein JL, Stein GS. Targeting deregulated epigenetic control in cancer. *J Cell Physiol* 2013; 228: 2103-2108 [PMID: 23589100 DOI: 10.1002/jcp.24387]
- 48 Zhu YZ, Zhu R, Shi LG, Mao Y, Zheng GJ, Chen Q, Zhu HG. Hepatitis B virus X protein promotes hypermethylation of p16(INK4A) promoter through upregulation of DNA methyltransferases in hepatocarcinogenesis. *Exp Mol Pathol* 2010; 89: 268-275 [PMID: 20620135 DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.06.013]
- 49 Park SH, Jung JK, Lim JS, Tiwari I, Jang KL. Hepatitis B virus X protein overcomes all-trans retinoic acid-induced cellular senescence by downregulating levels of p16 and p21 via DNA methylation. *J Gen Virol* 2011; 92: 1309-1317 [PMID: 21325480 DOI: 10.1099/vir.0.029512-0]
- 50 Zheng DL, Zhang L, Cheng N, Xu X, Deng Q, Teng XM, Wang KS, Zhang X, Huang J, Han ZG. Epigenetic modification induced by hepatitis B virus X protein via interaction with de novo DNA methyltransferase DNMT3A. *J Hepatol* 2009; 50: 377-387 [PMID: 19070387 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.019]
- 51 杨旋, 何松, 杨旋, 何松. HBx及其截短体在乙型肝炎病毒复制中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 41-46
- 52 Kim JK, Chang HY, Lee JM, Baatarkhuu O, Yoon YJ, Park JY, Kim do Y, Han KH, Chon CY, Ahn SH. Specific mutations in the enhancer II/core promoter/precore regions of hepatitis B virus subgenotype C2 in Korean patients with hepatocellular carcinoma. *J Med Virol* 2009; 81: 1002-1008 [PMID: 19382267 DOI: 10.1002/jmv.21501]
- 53 Liu L, Li Y, Zhang S, Yu D, Zhu M. Hepatitis B virus X protein mutant upregulates CENP-A expression in hepatoma cells. *Oncol Rep* 2012; 27: 168-173 [PMID: 21956590 DOI: 10.3892/or.2011.1478]
- 54 Yu H, Zhu R, Zhu YZ, Chen Q, Zhu HG. Effects of mutations in the X gene of hepatitis B virus on the virus replication. *Acta Virol* 2012; 56: 101-110 [PMID: 22720699]
- 55 Wang Q, Zhang WY, Ye LH, Zhang XD. A mutant of HBx (HBxDelta127) promotes hepatoma cell growth via sterol regulatory element binding protein 1c involving 5-lipoxygenase. *Acta Pharmacol Sin* 2010; 31: 367-374 [PMID: 20173757 DOI: 10.1038/aps.2010.5]
- 56 解新玉, 殷积彬, 吕志武, 齐兴四. 环氧合酶抑制剂在肝癌预防和治疗中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 158-163

编辑 田滢 电编 闫晋利



趋化因子受体在结直肠癌肝转移研究中的新进展

林轲羽, 宿华威

林轲羽, 宿华威, 哈尔滨医科大学附属第二医院微创外科 黑龙江省哈尔滨市 150086

林轲羽, 在读硕士, 主要从微创外科的研究.

作者贡献分布: 本文综述由林轲羽完成; 宿华威负责审核.

通讯作者: 宿华威, 副教授, 副主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普通外科七病区. 573463827@qq.com

收稿日期: 2013-04-27 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Progress in understanding role of chemokine receptors in liver metastases of colorectal cancer

Ke-Yu Lin, Hua-Wei Su

Ke-Yu Lin, Hua-Wei Su, Department of Minimally Invasive Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Hua-Wei Su, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. 573463827@qq.com

Received: 2013-04-27 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

Colorectal cancer is a common malignant tumor of the digestive tract. The liver is the most common target organ for the metastasis of colorectal cancer, and about 50% of patients with colorectal cancer will develop liver metastasis in their expected lifetime. Untreated patients with liver metastases of colorectal cancer have a median survival of 6-12 mo and a 5-year survival rate less than 10%. Due to the high malignancy of colorectal cancer, patients developing metastasis have a high death rate. Therefore, management of liver metastases of colorectal cancer (CRLM) is important for improving patient's survival and quality of life. Many researchers have a great interest in more effective and reasonable treatment of CRLM. Currently, surgical treatment remains the only potentially curative treatment for CRLM, but in the long run, surgical treatment has a limited role in improving the postoperative survival of patients. The rapid advances in

life science (e.g., gene field) and pharmaceutical technology have led to the development of some promising treatments for cancers. Recently, chemokines, a class of small-molecule proteins with chemotactic cell function, have aroused the interest of many scholars. Chemokines act upon their receptors and can recruit tumor cells and promote their migration. In this paper, we will review recent advances in understanding the role of chemokines in liver metastases of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chemokine receptors; Colorectal cancer; Hepatic metastases; Tumor

Lin KY, Su HW. Progress in understanding role of chemokine receptors in liver metastases of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2403-2411 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2403.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2403>

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是下消化道常见的恶性肿瘤, 肝脏是CRC转移最常见的靶器官, 在患者的预期生命中大约有50%的CRC将会发展成为肝转移. 未经治疗的CRC肝转移患者的中位生存期是6-12 mo, 5年生存率低于10%. 由于恶性程度高, 转移后患者死亡率高, 如何能提高CRC肝转移患者的生存率、提高患者的生活质量一直是临床医师所面临的一个严峻的问题, 所以许多研究人员对如何更有效、更合理的治疗此类患者产生了极大的兴趣. 外科手术治疗对于CRC肝脏转移的患者目前仍然是唯一的潜在的治愈性治疗手段, 但从长远来看, 手术治疗对于提高患者术后生存率的研究、发展空间越来越局限, 更多的是期待生物科学、制药技术、基因领域等近些年来迅速发展起来的新型治疗手段. 其中生物靶向治疗、基因治疗等的发展做出了很大的贡献, 近几年来, 一类具有趋化细胞功能的小分子蛋白逐渐引起了众多学者的兴趣, 这就是经过大量实验研究证实具有募集、迁移肿瘤细胞功能的趋化因子家族及其受体, 他们在生物、基因抗肿瘤疗效方面显示出巨大的潜力, 围绕其

■背景资料

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是下消化道常见的恶性肿瘤, 癌症转移至肝脏的患者生存率非常低, 目前临床上的主要治疗手段为手术、化疗(包括新辅助化疗和术后全身化疗)、放疗、射频消融、微波治疗、高强度聚焦超声及生物靶向治疗等.

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■ 研发前沿

近几年来,一类具有趋化细胞功能的小分子蛋白逐渐引起了众多学者的兴趣,这就是经过大量实验研究证实具有募集、迁移肿瘤细胞功能的趋化因子家族及其受体,他们在生物、基因抗肿瘤疗效方面显示出巨大的潜力。

抗肿瘤机理开发研制的部分生物制剂也陆续进入人们的视线,并且有着不错的治疗效果。下面本文就趋化因子受体在肿瘤治疗中的研究现状作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 趋化因子受体; 结直肠癌; 肝转移; 肿瘤

核心提示: 恶性肿瘤的标志就是原发灶的不断生长及癌灶的远处转移,肿瘤一般都有自己相对特异的转移器官,研究发现趋化因子及其受体可以表达于肿瘤细胞及正常的细胞表面,通过配体受体间的趋化作用相互吸引,从而介导癌细胞发生迁移;也可以结合后促进生成新生血管使原发灶迅速的增大。如果通过这些机制进行研发破坏原发肿瘤内的血管生成、切断其转移途径的生物制剂,相信是人类消灭肿瘤的历程中一个重要的里程碑。

林轲羽, 宿华威. 趋化因子受体在结直肠癌肝转移研究中的新进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2403-2411 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2403.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2403>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是下消化道常见的肿瘤,在欧美地区其癌症相关死亡率排在第2位^[1,2],在我国大陆地区发病率位居第4位。肝脏是CRC转移最常见的靶器官,在发现CRC的同时已经有肝转移称为同时癌,先发现CRC的原发灶后发现肝转移灶的称为异时癌,20%的患者在诊断的时候已经有临床证据表明存在肝转移,20%-25%的CRC会发展成为异时肝转移^[3],总之在患者的预期生命中大约有50%的CRC将会发展成为肝转移^[4]。未经治疗的CRC肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者的中位生存期是6-12 mo, 5年生存率低于10%^[5]。由于恶性程度高,转移后患者死亡率高,如何提高CRLM患者的生存率、提高患者的生活质量一直是临床医师所面临的一个严峻的问题,所以许多研究人员对如何更有效、更合理的治疗CRLM产生了极大的兴趣。外科手术对于CRC肝脏转移的患者目前仍然是唯一的潜在的治愈性治疗手段,据报道手术后5年存活率约为25%-40%^[6],但从长远来看,手术治疗对于提高患者术后生存率的研究、发展空间越来越局限,更多的是期待生物科学、制药技术、基因领域等近些年来迅速发展起来的新型治疗手段。有

数据表明由于化疗药物和生物制剂的不断更新,以及其他姑息治疗手段的快速发展配合手术切除治疗,临床上CRC肝转移术后的5年存活率已经达到35%-58%^[7]。其中生物靶向治疗、基因治疗等的发展做出了很大的贡献,也成为这方面的研究热点,在对于提高CRLM患者生存率,改善生活质量方面有很大的发展空间。

目前临床上对于CRLM的主要治疗手段分为以下几大类:手术、化疗(包括新辅助化疗和术后全身化疗)、放疗、射频消融、微波治疗、高强度聚焦超声及生物靶向治疗等。其中射频消融、微波治疗和高强度聚焦超声为局部治疗,不作为临床一线的主要治疗手段,仅作为手术不能切除或术后复发等个体化治疗的辅助治疗,一般多用于科研、实验等操作。近几年来,一类具有趋化细胞功能的小分子蛋白逐渐引起了众多学者的兴趣,这就是经过大量实验研究证实具有募集、迁移肿瘤细胞功能的趋化因子家族及其受体,他们在生物、基因抗肿瘤疗效方面显示出巨大的潜力,围绕其抗肿瘤机理开发研制的部分生物制剂也陆续进入人们的视线,并且有着不错的治疗效果。下面本文就趋化因子及其受体在肿瘤治疗中的研究现状作一综述。

1 趋化因子及其受体介绍

趋化因子也称作趋化激素、趋化素或是化学激素,是一类具有趋化吸引、募集某些细胞迁移到特定部位的小分子蛋白质(分子量为8-10 kDa),可以与活化作用的碱基肝素结合。目前研究发现并且克隆出的趋化因子约有50多种^[8],成熟的分子大小为68-100个氨基酸,由于约有20%-50%的序列完全相同所以他们分享部分基因序列和氨基酸序列。根据分子N端的Cys的排列顺序将趋化因子分为4个亚家族: CXC、CC、C、CX3C,其中CXC又分为ELR+和ELR-两个亚家族(ELR为Glu-Leu-Arg)。常见的ELR+CXC有白细胞介素(interleukin, IL)-8、上皮细胞嗜中性粒细胞活化蛋白(epithelial cell-derived neutrophil-activating protein, ENA)-78、中性粒细胞趋化蛋白(granulocyte chemotactic protein, GCP)-2、肿瘤生长相关因子(growth-related ontogeny, CRO)- $\alpha/\beta/\gamma$ 、中性粒细胞活化蛋白(neutrophil activating peptide, NAP)-2等^[9]。刚开始的研究发现这些趋化因子一部分被认为促进炎症反应,一部分则被认为在正常的修复过程或发育中控制细胞的迁徙,因此着重于研究其介导细胞在

炎症部位的聚集活化与组织损伤修复方面。但随着研究的逐步深入发现这些仅仅是冰山一角, 各种被趋化的细胞沿着不同趋化因子浓度增加形成的信号进行相应的迁移, 这些趋化因子有些负责免疫监视过程^[10](如趋化免疫细胞, 诱导淋巴细胞至淋巴结); 有些负责参与发育^[11](如刺激血管生成); 还有负责应对细菌感染、病毒感染、自身免疫攻击、肿瘤细胞侵入等^[12], 在生物体内参与一系列复杂的调控。趋化因子只有在与表达于细胞表面的趋化因子受体特异性结合才能发挥其各种生物学功能。

趋化因子受体(chemokine receptors, CXCR)他是表达在中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞和上皮细胞、成纤维细胞等结构细胞表面的具有7次跨膜领域的受体, 属G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR)超家族成员, 目前将近有20多种CXCR被发现并成功克隆, 根据其于不同趋化因子结合的位点将其分为: CXCR、CCR、CR、和CX3CR 4个亚类, 其中以CXCR研究较多。以前的研究普遍认为CXCR通过与趋化因子特异性结合后引发钙离子内流进而趋化免疫细胞, 主要在炎症、感染等过程中起作用, 不过越来越多的研究证实了在肿瘤、应激、自身免疫、病态反应、移植排斥反应、AIDS、淋巴细胞归巢以及新生血管生成等众多病理生理过程中都发挥重要作用。

研究发现趋化因子和趋化因子受体的结合不是一一对应, 其关系相当复杂, 一种趋化因子可以与不同的受体结合, 一种趋化因子受体也可以有不同的配体, 形成一个类似于网状结构体系, 其不同的组合形式所发挥的功能有可能完全不同, 也有可能是辅助协同的关系, 这是今后继续研究的一个方向。

2 CXCR1和CXCR2的研究

自从1987年第一个CXC IL-8发现后, 国内外先后有大量关于IL-8及其对应受体的研究, 先是Samanta和Grob采用趋化因子竞争结合试验证实存在两种IL-8受体, 即IL-8Ra(CXCR1)和IL-8Rb(CXCR2), 随后CXCR1和CXCR2基因分别由Holmes、Murphy首次成功克隆^[13,14], 人类的CXCR1基因定位于染色体2q35, 包含两个外显子和一个长约1.7 kb的内含子; 人类CXCR2也定位于2q35, 由3个外显子和2个内含子, 长分别为3.0、5.4 kb, 研究发现CXCR1和CXCR2同源性高达77%, 且同属G蛋白偶联受体超家族成员。

CXCR1和CXCR2是CXCR家族中较早发现的两个成员, 也是ELR+CXC的主要受体, 已有研究证实CXCR1、CXCR2主要表达于中性粒细胞、单核细胞、肥大细胞、Th1细胞、CD8⁺ T细胞及CD56⁺ NK细胞等表面, 但在不同的细胞中二者表达的量可能不同, 也可能选择性的只表达其中一种。IL-8为二者共同配体, IL-8与CXCR1/2结合后通过G-蛋白进行级联信号传导从而引起特定细胞发生迁移、脱颗粒等一系列生物学效应^[15]。其基本转导途径为: IL-8与相应受体结合后, 受体变构与G蛋白结合, 使G α 亚基中结合的GDP被GTP取代, 其空间结构发生变化, G α B及G α C亚基解聚, 激活磷脂酶C。激活磷脂酶C分解磷脂酰肌醇-4,5二磷酸产生第二信使三磷酸肌醇和甘油二酯。三磷酸肌醇可促进钙库的释放, 导致胞浆钙离子浓度瞬时升高; 甘油二酯可直接激活蛋白激酶C活化。胞浆钙离子浓度的变化及蛋白激酶C活化, 导致转录因子的活化, 最终引起靶细胞产生生物学效应。

研究初期发现CXCR1/CXCR2在急性炎症反应时与表达于内皮细胞表面趋化因子结合, 募集活化白细胞并改变其表面某些结构促进内皮细胞释放促炎细胞因子, 上皮细胞形成及血管形成过程中又使内皮细胞生成同时诱导趋化因子及受体大量表达, 进而激活或抑制角化细胞及内皮细胞增殖、血管生成等, 最终实现了在伤口愈合、临床缺血再灌注损伤、银屑病甚至某些癌症等^[16-19]疾病中可进行组织损伤修复这一重要生理功能: 人体外皮肤伤口愈合研究表明CXCR2表达在受损的角质细胞表面调节CXCR2表达的Th1/Th2细胞因子, CXCR2与配体结合后趋化白细胞活化聚集促进炎症发生和血管生成, 与表皮角质细胞的增殖关系紧密; 在缺血再灌注研究中Bertini等采用repertaxin非竞争性抑制CXCR1, 可有效阻止中性粒细胞在体内的活化聚集及降低器官缺血再灌注损伤, 表明CXCR1对于中性粒细胞的活化募集起重要作用; 杨桂兰等应用RT-PCR法检测进行期斑状银屑病患者治疗后PBMC中该两种受体的表达水平发现CXCR2 mRNA明显高于对照组($P>0.05$), 得出CXCR2可能在银屑病的发病机制中对于炎症细胞的激活和移行起一定的作用; 后来慢慢发现黑色素瘤细胞表面也可表达CXCR1/2, Singh研究发现敲除CXCR1/2的A275-SM人黑色素瘤细胞在体内的增值能力减弱, 迁移力及侵袭力明显下降, 并且在行体外裸鼠实

■相关报道

许多国内外的文献对CRC肝转移的各种治疗方法进行了研究及对比, 从不同角度阐述各种方法的优缺点, 随着生物、药学技术的发展, 有关于趋化因子受体的研究与报道也逐渐增多, 包括对其本质的认识, 机体生理、病理活动中所发挥作用的研究及在肿瘤方面的各种深入探索。

■创新盘点

本文总结了趋化因子受体在CRC肝转移研究现状,包括国内外研究的不同趋化因子受体在人体内参与的各种生理或病理活动的最新进展,着重阐述其在肿瘤方面所发挥的作用。

实验将SM-shCXCR1/2转染至裸鼠体内,对比正常组发现肿瘤细胞生长、增殖明显受抑制,因此发现CXCR1/2在人黑色素瘤的进展中起重要作用,从而为治疗恶性黑色素瘤提供新的治疗靶点,同时也引起了研究人员对于探索趋化因子家族及其受体在肿瘤方面作用的注意。

3 CXCR4和CXCR7的研究现状

CXCR4是最早发现与免疫细胞的“归巢”和信息传递有关的趋化因子受体,也是近年来发现与肿瘤增殖、浸润及转移等过程密切相关的趋化因子受体^[20]。CXCR4是一个由352个氨基酸构成的视紫红质样GPCR,其编码基因位于染色体2q21,以前认为基质衍生因子(stroma derived factor 1, SDF-1, 亦称CXCL12)是其唯一的配体,以CXCL12/CXCR4生物轴形式在维持胚胎发育、介导免疫及炎症反应、调控造血、HIV感染、诱导血管生成和肿瘤的侵袭转移发展过程中发挥作用,不过近期新的研究发现CXCR7也可以与CXCL12结合,形成的CXCL12/CXCR7生物轴同样在肿瘤的发展过程中起重要作用。CXCR4参与肿瘤的调控最早由Müller等^[21]于2001年研究报道:人乳腺癌细胞系和肿瘤组织中均高表达CXCR4,而在乳腺癌最常见的转移部位如淋巴结、肺、肝脏等高表达CXCL12,利用中和抗体、特异性多肽以及siRNA阻断CXCR4表达后可以明显抑制乳腺癌向淋巴结和肺的转移,依此提出肿瘤细胞基于趋化因子实现器官特异性转移的理论模型(即不同的肿瘤细胞高表达特异的趋化因子受体),而有些器官高表达其特异性趋化因子配体,肿瘤细胞借助二者的特异性结合力,最终实现向这些器官的特异性转移。随后, Kim等^[22]通过对CRC肝转移患者的肿瘤细胞检测后发现CXCR4在原发灶细胞表面高表达(阳性率达97%),对肝脏、淋巴结、肺等CRC常见的转移部位也检测到其配体的高表达。与此同时Sun等^[23]通过下调CXCR4的表达进而抑制前列腺癌的远处转移也进一步说明了CXCL12/CXCR4在对肿瘤的转移过程中有促进作用。

过去一直认为CXCR4是CXCL12的唯一受体,直到Balabanian等^[24]的发现CXCL12可以和一种孤儿受体结合及随后Burn等^[25]在沉默小鼠胚胎CXCR4基因后发现小鼠肝细胞仍可以与CXCL12结合,这些研究促使人们进一步发现并且鉴定与CXCL12结合的新位点为孤儿受体分

子,由于其在氨基酸的序列上与CXCR4有31%的同源性,故更名为CXCR7, CXCR7基因仅编码两个外显子,定位于染色体2q37。也正是基于这点,许多研究人员设想CXCL12/CXCR7可能具有与CXCL12/CXCR4类似的功能,正如人们推测一样, Miao等^[26]在肺癌、乳腺癌、宫颈癌、肾癌、横纹肌肉瘤中通过免疫组织化学方法均检测出CXCR7的表达。而Wang等^[27]则证实CXCR7的表达还与肿瘤恶性程度相关,他采用高通量组织芯片观察到CXCR7在正常的前列腺上皮组织及上皮内瘤变组织中呈弱阳性,在前列腺癌灶中则呈强阳性($P>0.05$),并且他在体外单独培养内皮细胞时几乎没有发现微血管芽状组织形成,当内皮细胞和PC3或C4-2B细胞共同培养时肿瘤细胞表面表达的CXCR7增多,这一研究表明CXCR7与肿瘤的血管生成有一定关系。不过虽然都能与CXCL12结合,但CXCR4与CXCR7之间还是有差异的,如在CXCL12所参与肾祖细胞归巢的过程中: CXCR4主要介导肾祖细胞的趋化迁移,而CXCR7主要促进肾祖细胞的存活与内皮细胞的黏附。由于CXC与CXCR并不是一一对应,他们构成的网络系统庞大复杂,所以关于CXCR4与CXCR7之间错综复杂的功能还未完全清楚,还有待于进一步研究。

总之,目前已有大量的研究证实了CXCR4和CXCR7在肿瘤的生长、转移过程中都发挥着重要的作用,不仅是体外的实验,在各种动物模型的体内得到证实,这些都为肿瘤的治疗提供新靶点。理论上通过阻断CXCL12/CXCR4、CXCL12/CXCR7生物轴,就可以一定程度上抑制原发肿瘤的增长和减少远处的转移,基于以上理论,以下多项研究证实该想法是可行的^[28-31]。Yoon等^[28]发现CXCR4的拮抗剂TN14003可以有效抑制头颈部癌原发灶的生长及转移;与此同时有报告称CXCL12的类似物CTCE-9908也可以抑制小鼠黑色素瘤及骨肉瘤的肺转移;也研究报道应用CXCR4拮抗剂AMD3100联合化疗药物可以抑制对多形性成胶质细胞瘤细胞而增加对瘤细胞的凋亡; Kollmar等^[31]将CXCR7中和抗体注射到小鼠腹腔后,观察其皮下荷瘤的成瘤组织显示新生血管密度显著减少;另外,利用干扰技术下调乳腺癌4T1及肺癌LLC细胞中的CXCR7基因,可使肿瘤体积变小,并减少转移灶的数目。不过, CXCR4/CXCR7在肿瘤中作用的相关传导通路和调节机制至今还未完全明确,对于开发研制针对这两

个CXC的相关新型药物也必将成为今后肿瘤基因治疗的一个热点研究方向。

4 CXCR3在结直肠癌肝转移中的研究

趋化因子受体CXCR3在众多趋化因子受体中, 相比于CXCR4来说, CXCR3的研究相对较少, 但由于其氨基酸序列与CXCR4有很高的同源性, 近年来也有不少关于其与病毒性疾病(如HBV)、炎症性疾病(如支气管哮喘)、移植的排斥反应、自身免疫性疾病(如类风湿关节炎、Graves病、系统性红斑狼疮等)、恶性肿瘤(如非小细胞肺癌、胃癌、CRC等)的研究报道^[32,33]。CXCR3基因位于Xq13, 含有368个氨基酸, 分子量约41 kDa, 具有典型的G蛋白偶联受体(GPCR)结构, 其配体有干扰素诱导的单核因子(monokine induced by IFN- γ , Mig, 又称CXCL9)、IFN- γ 诱导蛋白10(IFN- γ inducible protein 10, IP-10, 又称CXCL10)、和IFN诱导T细胞 α 趋化因子(IFN-inducible T cell α chemoattractant, I-TAC, 又称CXCL11)。CXCR3主要表达于T细胞、B细胞、NK细胞表面, 根据氨基酸末端的不同, CXCR3又分为3种不同的变体: (1)CXCR3A-主要表达于活化的T细胞和NK细胞, 参与IFN- γ 诱导CXC趋化因子发挥抗肿瘤免疫效应; (2)CXCR3B-主要分布于血管内皮细胞介导血管的稳态; (3)CXCR3-alt-主要与I-TAC结合发挥生物学作用。我们常说的CXCR3主要是指CXCR3A, 只有在与其特异性受体结合后才能在体内发挥各种生物学功能, 目前研究相对较多的CXCR3配体是CXCL10(IP-10)和CXCL11(I-TAC), 而对于CXCL9(Mig)的报道相对较少。

诱导蛋白10 IP-10(CXCL10)最早是于1985年由美国人Luster等^[34]采用IFN- γ 刺激人白血病U937细胞株从cDNA基因库中筛选出来。其编码基因位于人第四号染色体q21, IP-10基因的表达需要IFN- γ 刺激, 并呈剂量依赖性和时间依赖性, 目前研究认为CXCR3是其唯一受体, IP-10最初发现可在单核细胞内被IFN- γ 诱导表达, 在体内募集Th1细胞分泌IFN- γ 刺激炎症反应局部产生IP-10, 在体外还可以诱导外周血单核细胞表达IFN- γ , 二者在某种程度上有相互促进的作用, 从而实现IP-10的分泌不断增多, 之后又有研究发现IP-10可由人成纤维细胞、肝实质细胞、角化细胞等多种细胞表达, 参与体内广泛的病理生理过程^[35,36]。类似的, IP-10通过募集表

达在CXCR3的T、B、NK等细胞聚集至肿瘤局部发挥肿瘤免疫作用, 抑制血管生成减少肿瘤血供。CXCR3与IP-10结合形成的IP-10/CXCR3生物轴也参与某些消化系统肿瘤的发生发展: Hirano等^[37]在HCC切片中检测到IP-10高表达, 但通过免疫组织化学染色显示仅在淋巴细胞高度浸润的HCC可见IP-10的表达, 得出其与淋巴细胞浸润相关。同样的结果在裸鼠食管癌的研究中也得到印证, Liu等^[38]将IL-27基因稳定转染的人食管癌细胞Eca109接种于裸鼠体内, 检测到裸鼠体内瘤体组织中IP-10 mRNA表达水平显著高于对照组(空载体质粒转染Eca109组裸鼠, $P>0.05$)、微血管密度降低, 提示IL-27可通过上调IP-10的表达水平从而抑制原发肿瘤内的血管生成起到抗肿瘤的作用。不仅抑制原发肿瘤生长中有作用, 而且也有研究报道IP-10/CXCR3参与恶性肿瘤的远处转移。在以往CXCR4的研究中, 给予乳腺癌小鼠模型注射CXCR4抑制剂, 可以显著的抑制肺转移, 同样地, 有研究人员换成CXCR3抑制剂也可以得到类似的结果^[39]。Zipin-Roitman等^[40]检测到CRC细胞表面CXCR3的表达, 在CRC常见的转移部位肝脏、肺、淋巴结等检测到IP-10的表达, 表明CXCR3通过与IP-10结合使表达CXCR3的CRC细胞有转移的相关性。综上所述, IP-10/CXCR3在消化系统肿瘤中的抗肿瘤效应可能主要在肿瘤微环境中发挥作用, 但其作用的机制复杂, 目前我们对其了解的只是冰山一角, 还需要大量的深入研究。

IFN诱导T细胞 α 趋化因子I-TAC(CXCL11)的cDNA于1996年被发现, 1998年首次被证实为趋化因子, 编码基因位于人染色体4q21.2, 由73个氨基酸构成, 分布在人体胸腺、脾脏、胰腺等器官, 主要表达于星形角质细胞, 支气管上皮细胞、血管内皮细胞等细胞表面^[41,42]。I-TAC主要对高表达CXCR3的Th1细胞有趋化作用, 一些研究^[43]证实在CXCR3的三配体中, 他与CXCR3的结合力比Mig和IP-10都强, 并且能够阻断其他两个趋化因子与CXCR3的结合而且不被高剂量的Mig和IP-10所抑制。大量的研究证实I-TAC/CXCR3生物轴与其他趋化因子及其受体一样不仅参与机体的炎症反应过程、器官移植及中枢神经的免疫过程, 在肿瘤方面也有一定作用, 其机理大致也是趋化表达各种表达趋化因子或趋化因子受体的细胞聚集、迁移等进而调控细胞的增殖与转移。在肿瘤方面, 最近有研究指出I-TAC/CXCR3不但介导个别癌灶

■应用要点

本文较详细的讲述了不同的趋化因子受体在其所参与的机体生理活动时所发挥的作用, 并对比各个受体在炎症、免疫、肿瘤等方面的作用以指导或者是为后续研发相应治疗药物做铺垫。

■名词解释

CXC/CXCR生物轴: 每个趋化因子在机体发挥其作用的前提是必须与相应的受体结合, 一种趋化因子可以与不同的受体结合, 一种受体也可以与不同的因子结合。

的肿瘤细胞的定向移动, 还参与了包括穿入血管、锚定、穿出血管、免疫逃逸、增殖及血管生成等过程^[44]。目前关于I-TAC/CXCR3结合之后的信号传导还没有完全明确, 有些学者认为与IL-8/CXCR1、CXCR2介导的信号传导途径相仿(本文前面已详述), 可以上调黏附分子表达, 促进活化的淋巴细胞跨血管内皮迁移, 诱导Th1细胞, 在抗肿瘤免疫中趋化CD8⁺细胞, 分泌Th1型细胞因子IFN- γ 进而发挥对肿瘤细胞的杀伤作用^[45,46]。国内杨秀利等^[47]通过建立pcDNA3-4T1真核表达质粒, 基因转染方法构建稳定表达I-TAC的乳腺癌细胞系ITAC-4T1接种裸鼠皮下, 于裸鼠皮下局部肿瘤组织检测到高水平的I-TAC mRNA, 在经脾细胞体外抗原特异性刺激活化后显示了对4T1细胞明显的杀伤作用, 提示I-TAC的局部表达可以显著增强机体细胞免疫水平, 并分泌IFN- γ 识别杀死肿瘤细胞从而发挥抗肿瘤作用。基于这些研究的发现, 我们可以设想沉默CXCR3、阻断I-TAC/CXCR3生物轴或上调肿瘤细胞I-TAC的表达来提供新的抗肿瘤治疗策略。

总之, 不管是Mig还是IP-10和I-TAC与CXCR3形成的生物轴, 其实质在于CXCR3对于其配体的高度亲和力和特异性, 结合后相互作用而构成的一个细胞间信息传递的偶联分子对。研究表明CXCR3的两个胞外区一个是结合配体活化本身所需, 一个则是配体诱导受体活化所必需的, 这就提示了CXCR3的不同结构域与不同配体结合活化进而介导不同的生物学功能^[48,49]。所以在肿瘤领域, 针对CXCR3完全有可能开发具有竞争其结合位点的药物, 增强Mig、IP-10及I-TAC与CXCR3的相互作用, 通过诱导Th1型免疫应答同时抑制肿瘤内血管生成来提高抗肿瘤效果。

5 结论

CXCR1/2是CXCR家族中较早被研究的两个重要成员, 主要表达于特定的炎症细胞表面(如中性粒细胞、单核细胞、Th1细胞、肥大细胞、CD8⁺细胞等), 可与CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8结合后通过G蛋白变构剂激活下游的效应分子进行信号转导, 从而进行介导细胞发生迁移、脱颗粒等生物学效应。CXCR4/7在人体正常的组织发育、炎症反应及造血组织动员等广泛方面发挥作用, 也是CXCR家族中较早发现参

与肿瘤的发生发展的, 研究最成熟的就是在乳腺癌方面的作用, 在抑制乳腺癌增长及转移方面取得了不错的效果。虽然CXCL12/CXCR4和CXCL12/CXCR7对某些肿瘤有抑制其生长、发育的作用, 但其各自信号通路的具体调控是独立还是协同至今未明确, 还需要进一步的研究, 而寻找、筛选稳定有效的CXCR4/CXCR7拮抗剂也将成为肿瘤基因治疗的新手段。CXCR3与其三个配体(即趋化因子Mig、IP-10、I-TAC)形成的生物轴在抗肿瘤的研究当中取得了不错的成绩, IP-10和I-TAC既有募集表达CXCR3淋巴细胞诱导Th1型免疫应答的功能, 又能抑制血管生成, 功能分析表明I-TAC是CXCR3最强的激动剂具有更显著的诱导抗肿瘤免疫功能; 而IP-10抗血管作用比I-TAC强^[50,51], 因此今后如何结合二者独特优势开发研制新的抗肿瘤药物也必将是众多学者的热点研究。

CRLM的发病率逐年上升, 其癌灶的远处转移是影响患者生存率、生活质量的一个主要因素, 而肝脏是临床上最常转移的靶器官, 虽然目前手术依旧是治愈CRLM患者潜在性的治疗方法, 但仍有许多患者不能行根治手术并且只靠手术来提高患者预后已经没有什么大的发展空间, 所以不断会有新型化疗药物, 靶向生物制剂等的问世。目前发现的几十种趋化因子及其受体已经被证实在肿瘤的发生发展过程中起重要作用, 有学者用“土壤-种子”学说来诠释肿瘤的转移, 即肿瘤一般都有自己相对特异的转移器官, 也有学者解释为肿瘤细胞的“归巢”, 而趋化因子及其受体正是通过募集特定表达与之匹配的CXC/CXCR的细胞迁移至特定的部位发挥作用, 即CXC与CXCR相互吸引、相互作用, 恶性肿瘤的标志就是原发灶的不断生长及癌灶的远处转移, 这就需要破坏原发肿瘤内的血管生成、切断其转移途径, 所以说在抗肿瘤的研究中CXCR肯定是今后的热点, 而且很有潜力。虽然对于这类小分子我们了解的还远远不够, 只是出于初步的探索中, 但就已经掌握的几个因子及受体从最初的研究至今天的发展来看, 其在人类消灭肿瘤的发展历程中是一个重要的里程碑。

6 参考文献

- 1 Remontet L, Estève J, Bouvier AM, Grosclaude P, Launoy G, Menegoz F, Exbrayat C, Tretare B, Carli PM, Guizard AV, Troussard X, Bercelli P, Colonna M, Halna JM, Hedelin G, Macé-Lesec'h J, Peng J, Buemi A, Velten M, Jouglu E, Arveux P, Le Bodic L,

- Michel E, Sauvage M, Schwartz C, Faivre J. Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2003; 51: 3-30 [PMID: 12684578]
- 2 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66 [PMID: 17237035 DOI: 10.3322/canjclin.57.1.43]
- 3 Pawlik TM, Choti MA. Surgical therapy for colorectal metastases to the liver. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1057-1077 [PMID: 17530336 DOI: 10.1007/s11605-006-0061-3]
- 4 Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29 [PMID: 14974761 DOI: 10.3322/canjclin.54.1.8]
- 5 Bengmark S, Hafström L. The natural history of primary and secondary malignant tumors of the liver. I. The prognosis for patients with hepatic metastases from colonic and rectal carcinoma by laparotomy. *Cancer* 1969; 23: 198-202 [PMID: 5763253 DOI: 10.1002/1097-0142(196901)23:1<198::AID-CNCR2820230126>3.0.CO;2-J]
- 6 Bentrem DJ, Dematteo RP, Blumgart LH. Surgical therapy for metastatic disease to the liver. *Annu Rev Med* 2005; 56: 139-156 [PMID: 15660506 DOI: 10.1146/annurev.med.56.082103.104630]
- 7 Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, Sumetchotimetha W, Rangsri R, Schulick RD, Lillemoe KD, Yeo CJ, Cameron JL. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg* 2002; 235: 759-766 [PMID: 12035031 DOI: 10.1097/00000658-200206000-00002]
- 8 Jin T, Xu X, Hereld D. Chemotaxis, chemokine receptors and human disease. *Cytokine* 2008; 44: 1-8 [PMID: 18722135 DOI: 10.1026/j.cyto.2008.06.017]
- 9 王健, 王平平, 胡孝彬, 项桂菊. 肝硬化患者肝活检组织中IL-8 mRNA表达. *中华微生物学和免疫学杂志* 2008; 28: 269-272
- 10 Hensbergen PJ, Wijnands PG, Schreurs MW, Scheper RJ, Willemze R, Tensen CP. The CXCR3 targeting chemokine CXCL11 has potent antitumor activity in vivo involving attraction of CD8+ T lymphocytes but not inhibition of angiogenesis. *J Immunother* 2005; 28: 343-351 [PMID: 16000952 DOI: 10.1097/01.cji.0000165355.26795.27]
- 11 Allen SJ, Crown SE, Handel TM. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 787-820 [PMID: 17291188 DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090529]
- 12 Wu YY, Tsai HF, Lin WC, Hsu PI, Shun CT, Wu MS, Hsu PN. Upregulation of CCL20 and recruitment of CCR6+ gastric infiltrating lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis. *Infect Immun* 2007; 75: 4357-4363 [PMID: 17562763 DOI: 10.1128/IAI.01660-06]
- 13 Holmes WE, Lee J, Kuang WJ, Rice GC, Wood WI. Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor. *Science*. 1991. 253: 1278-1280. *J Immunol* 2009; 183: 2895-2897 [PMID: 19696428]
- 14 Murphy PM, Tiffany HL. Cloning of complementary DNA encoding a functional human interleukin-8 receptor. *Science*. 1991. 253: 1280-1283. *J Immunol* 2009; 183: 2898-2901 [PMID: 19696429]
- 15 Stillie R, Farooq SM, Gordon JR, Stadnyk AW. The functional significance behind expressing two IL-8 receptor types on PMN. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 529-543 [PMID: 19564575 DOI: 10.1189/jlb.0208125]
- 16 Zaja-Milatovic S, Richmond A. CXC chemokines and their receptors: a case for a significant biological role in cutaneous wound healing. *Histol Histopathol* 2008; 23: 1399-1407 [PMID: 18785122]
- 17 Bertini R, Allegretti M, Bizzarri C, Moriconi A, Locati M, Zampella G, Cervellera MN, Di Cioccio V, Cesta MC, Galliera E, Martinez FO, Di Bitondo R, Troiani G, Sabbatini V, D'Anniballe G, Anacardio R, Cutrin JC, Cavalieri B, Mainiero F, Strippoli R, Villa P, Di Girolamo M, Martin F, Gentile M, Santoni A, Corda D, Poli G, Mantovani A, Ghezzi P, Colotta F. Noncompetitive allosteric inhibitors of the inflammatory chemokine receptors CXCR1 and CXCR2: prevention of reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 11791-11796 [PMID: 15282370 DOI: 10.1073/pnas.0402090101]
- 18 Singh S, Sadanandam A, Varney ML, Nannuru KC, Singh RK. Small interfering RNA-mediated CXCR1 or CXCR2 knock-down inhibits melanoma tumor growth and invasion. *Int J Cancer* 2010; 126: 328-336 [PMID: 19585580 DOI: 10.1002/ijc.24714]
- 19 Sharma B, Singh S, Varney ML, Singh RK. Targeting CXCR1/CXCR2 receptor antagonism in malignant melanoma. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 435-442 [PMID: 20230195 DOI: 10.1517/14728221003652471]
- 20 Kryczek I, Wei S, Keller E, Liu R, Zou W. Stromaderived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292: C987-C995 [PMID: 16943240 DOI: 10.1152/ajpcell.00406.2006]
- 21 Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verástegui E, Zlotnik A. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410: 50-56 [PMID: 11242036 DOI: 10.1038/35065016]
- 22 Kim J, Mori T, Chen SL, Amersi FF, Martinez SR, Kuo C, Turner RR, Ye X, Bilchik AJ, Morton DL, Hoon DS. Chemokine receptor CXCR4 expression in patients with melanoma and colorectal cancer liver metastases and the association with disease outcome. *Ann Surg* 2006; 244: 113-120 [PMID: 16794396 DOI: 10.1097/01.sla.0000217690.65909.9c]
- 23 Sun YX, Schneider A, Jung Y, Wang J, Dai J, Wang J, Cook K, Osman NI, Koh-Paige AJ, Shim H, Pienta KJ, Keller ET, McCauley LK, Taichman RS. Skeletal localization and neutralization of the SDF-1(CXCL12)/CXCR4 axis blocks prostate cancer metastasis and growth in osseous sites in vivo. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 318-329 [PMID: 15647826 DOI: 10.1359/JBMR.041109]
- 24 Balabanian K, Lagane B, Infantino S, Chow KY, Harriague J, Moepps B, Arenzana-Seisdedos F, Thelen M, Bachelier F. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 35760-35766 [PMID: 16107333 DOI: 10.1074/jbc.M508234200]
- 25 Burns JM, Summers BC, Wang Y, Melikian A, Berahovich R, Miao Z, Penfold ME, Sunshine MJ, Litman DR, Kuo CJ, Wei K, McMaster BE, Wright K, Howard MC, Schall TJ. A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell

同行评价

本文综述的内容较重要, 提供了充足有意义的信息, 具有一定新颖性。

- adhesion, and tumor development. *J Exp Med* 2006; 203: 2201-2213 [PMID: 16940167 DOI: 10.1084/jem.20052144]
- 26 Miao Z, Luker KE, Summers BC, Berahovich R, Bhojani MS, Rehemtulla A, Kleer CG, Essner JJ, Nasevicius A, Luker GD, Howard MC, Schall TJ. CXCR7 (RDC1) promotes breast and lung tumor growth in vivo and is expressed on tumor-associated vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15735-15740 [PMID: 17898181 DOI: 10.1073/pnas.0610444104]
 - 27 Wang J, Shiozawa Y, Wang J, Wang Y, Jung Y, Pienta KJ, Mehra R, Loberg R, Taichman RS. The role of CXCR7/RDC1 as a chemokine receptor for CXCL12/SDF-1 in prostate cancer. *J Biol Chem* 2008; 283: 4283-4294 [PMID: 18057003 DOI: 10.1074/jbc.M707465200]
 - 28 Yoon Y, Liang Z, Zhang X, Choe M, Zhu A, Cho HT, Shin DM, Goodman MM, Chen ZG, Shim H. CXC chemokine receptor-4 antagonist blocks both growth of primary tumor and metastasis of head and neck cancer in xenograft mouse models. *Cancer Res* 2007; 67: 7518-7524 [PMID: 17671223 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2263]
 - 29 Redjal N, Chan JA, Segal RA, Kung AL. CXCR4 inhibition synergizes with cytotoxic chemotherapy in gliomas. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6765-6771 [PMID: 17121897 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1372]
 - 30 Kim SY, Lee CH, Midura BV, Yeung C, Mendoza A, Hong SH, Ren L, Wong D, Korz W, Merzouk A, Salari H, Zhang H, Hwang ST, Khanna C, Helman LJ. Inhibition of the CXCR4/CXCL12 chemokine pathway reduces the development of murine pulmonary metastases. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25: 201-211 [PMID: 18071913 DOI: 10.1007/s10585-007-9133-3]
 - 31 Kollmar O, Rupertus K, Scheuer C, Nickels RM, Haberl GC, Tilton B, Menger MD, Schilling MK. CXCR4 and CXCR7 regulate angiogenesis and CT26.WT tumor growth independent from SDF-1. *Int J Cancer* 2010; 126: 1302-1315 [PMID: 19821487 DOI: 10.1002/ijc.23956]
 - 32 Petrai I, Rombouts K, Lasagni L, Annunziato F, Cosmi L, Romanelli RG, Sagrinati C, Mazzinghi B, Pinzani M, Romagnani S, Romagnani P, Marra F. Activation of p38(MAPK) mediates the angiostatic effect of the chemokine receptor CXCR3-B. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 1764-1774 [PMID: 18291705 DOI: 10.1016/j.biocel.2008.01.008]
 - 33 Hasegawa H, Inoue A, Kohno M, Lei J, Miyazaki T, Yoshie O, Nose M, Yasukawa M. Therapeutic effect of CXCR3-expressing regulatory T cells on liver, lung and intestinal damages in a murine acute GVHD model. *Gene Ther* 2008; 15: 171-182 [PMID: 17989707]
 - 34 Luster AD, Unkel10.1038/sj.gt.3303051ess JC, Ravetch JV. Gamma-interferon transcriptionally regulates an early-response gene containing homology to platelet proteins. *Nature* 1985; 315: 672-676 [PMID: 3925348 DOI: 10.1038/315672a0]
 - 35 Wiley R, Palmer K, Gajewska B, Stämpfli M, Alvarez D, Coyle A, Gutierrez-Ramos J, Jordana M. Expression of the Th1 chemokine IFN-gamma-inducible protein 10 in the airway alters mucosal allergic sensitization in mice. *J Immunol* 2001; 166: 2750-2759 [PMID: 11160341]
 - 36 Harvey CE, Post JJ, Palladinetti P, Freeman AJ, Ffrench RA, Kumar RK, Marinos G, Lloyd AR. Expression of the chemokine IP-10 (CXCL10) by hepatocytes in chronic hepatitis C virus infection correlates with histological severity and lobular inflammation. *J Leukoc Biol* 2003; 74: 360-369 [PMID: 12949239 DOI: 10.1189/jlb.0303093]
 - 37 Hirano S, Iwashita Y, Sasaki A, Kai S, Ohta M, Kitano S. Increased mRNA expression of chemokines in hepatocellular carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 690-696 [PMID: 17444857]
 - 38 Liu LH, Shan BE, Wang SJ, et al. Interleukin-27 inhibits tumor angiogenesis through up-regulating expression of MIG and IP-10. *Chin J Cancer Biother* 2009; 16: 40-44
 - 39 Micco AG, Richter CP. Electrical resistivity measurements in the mammalian cochlea after neural degeneration. *Laryngoscope* 2006; 116: 1334-1341 [PMID: 16885732 DOI: 10.1097/01.mlg.0000231828.37699.ab]
 - 40 Zipin-Roitman A, Meshel T, Sagi-Assif O, Shalmon B, Avivi C, Pfeffer RM, Witz IP, Ben-Baruch A. CXCL10 promotes invasion-related properties in human colorectal carcinoma cells. *Cancer Res* 2007; 67: 3396-3405 [PMID: 17409450 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3087]
 - 41 Clark-Lewis I, Mattioli I, Gong JH, Loetscher P. Structure-function relationship between the human chemokine receptor CXCR3 and its ligands. *J Biol Chem* 2003; 278: 289-295 [PMID: 12417585 DOI: 10.1074/jbc.M209470200]
 - 42 Lasagni L, Francalanci M, Annunziato F, Lazzeri E, Giannini S, Cosmi L, Sagrinati C, Mazzinghi B, Orlando C, Maggi E, Marra F, Romagnani S, Serio M, Romagnani P. An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4. *J Exp Med* 2003; 197: 1537-1549 [PMID: 12782716 DOI: 10.1084/jem.20021897]
 - 43 Proceedings of the 7th International Conference on Aspartic Proteinases. Banff, Alberta, Canada. October 22-27, 1996. *Adv Exp Med Biol* 1998; 436: 1-488 [PMID: 9625660]
 - 44 Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 540-550 [PMID: 15229479 DOI: 10.1038/nrc1388]
 - 45 Xie JH, Nomura N, Lu M, Chen SL, Koch GE, Weng Y, Rosa R, Di Salvo J, Mudgett J, Peterson LB, Wicker LS, DeMartino JA. Antibody-mediated blockade of the CXCR3 chemokine receptor results in diminished recruitment of T helper 1 cells into sites of inflammation. *J Leukoc Biol* 2003; 73: 771-780 [PMID: 12773510 DOI: 10.1189/jlb.1102573]
 - 46 Helmich BK, Dutton RW. The role of adoptively transferred CD8 T cells and host cells in the control of the growth of the EG7 thymoma: factors that determine the relative effectiveness and homing properties of Tc1 and Tc2 effectors. *J Immunol* 2001; 166: 6500-6508 [PMID: 11359800]
 - 47 杨秀丽, 储以微, 乔滨. I-TAC转染乳腺癌细胞系4T1的体内外生物学行为研究. *中国癌症杂志* 2005; 15: 252-256
 - 48 Xanthou G, Williams TJ, Pease JE. Molecular characterization of the chemokine receptor CXCR3: evidence for the involvement of distinct extracellular domains in a multi-step model of ligand

- binding and receptor activation. *Eur J Immunol* 2003; 33: 2927-2936 [PMID: 14515277 DOI: 10.1002/eji.200324235]
- 49 Colvin RA, Campanella GS, Manice LA, Luster AD. CXCR3 requires tyrosine sulfation for ligand binding and a second extracellular loop arginine residue for ligand-induced chemotaxis. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 5838-5849 [PMID: 16847335 DOI: 10.1128/ MCB.00556-06]
- 50 Chen P, Yang LL, Yang HS, Wang YS, Li G, Wu Y, Fang F, Liu K, Li J, Zhao X, Hu HZ, Wei YQ. Synergistic antitumor effect of CXCL10 with hyperthermia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 679-687 [PMID: 18066596 DOI: 10.1007/s00432-007-0337-3]
- 51 Li B, Li Q, Zhao QL, Wei XB, Zhang XH, Wu CQ, Zhong CP. Murine dendritic cells modified with CXCL10 gene and tumour cell lysate mediate potent antitumour immune responses in mice. *Scand J Immunol* 2007; 65: 8-13 [PMID: 17212761 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2006.01861.x]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

藤黄酸抗肿瘤机制的研究进展

侯毅, 竺平, 陈邑岐, 朱秉宜, 谷云飞

■背景资料

藤黄是藤黄科植物藤黄提取的树脂。近年来研究发现该药可通过多种机制起到抗肿瘤效果, 是一种多靶点的抗肿瘤天然药物。但鉴于生药藤黄毒性巨大, 临床应用受到限制, 故寻找和筛选藤黄中类似的活性单体是解决上述问题的途径之一。研究发现藤黄酸是其抗肿瘤的活性成分之一。其抗肿瘤机制较为复杂, 目前大部分研究基于体外实验, 动物实验及临床试验研究尚少。

侯毅, 竺平, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

陈邑岐, 朱秉宜, 谷云飞, 南京中医药大学附属医院 江苏省南京市 210029

侯毅, 博士生, 主要从事中医外科学肛肠病学研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008457

作者贡献分布: 本综述由谷云飞与朱秉宜设计; 文献搜集由侯毅、竺平及陈邑岐完成; 论文写作由侯毅与竺平完成; 谷云飞负责审核。

通讯作者: 谷云飞, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中 路155号, 南京中医药大学附属医院。guyunfei127@126.com
电话: 02586617141-71116

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-28

Progress in understanding mechanisms behind anti-tumor effects of gambogic acid

Yi Hou, Ping Zhu, Yi-Qi Chen, Bing-Yi Zhu, Yun-Fei Gu

Yi Hou, Ping Zhu, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Yi-Qi Chen, Bing-Yi Zhu, Yun-Fei Gu, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008457

Correspondence to: Yun-Fei Gu, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. guyunfei127@126.com

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

Gambogic acid, a major active component of gamboge resin extracted from *Garcinia hanburyi* tree, has potent anti-tumor activities. Based on domestic and foreign literature, we speculate that the anti-tumor activities of gambogic acid might be mediated via different mechanisms, including inducing cell apoptosis and cell cycle arrest, inhibiting the activity of telomerase or topoisomerase, reducing tumor cell invasion, adhesion and migration, and reversal of tumor multidrug resistance (MDR). In this paper, we review the mechanisms behind the anti-tumor effects of gambogic acid, with an aim to provide

some new clues to the development of anti-tumor drugs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gambogic acid; Anti-tumor mechanisms; Review

Hou Y, Zhu P, Chen YQ, Zhu BY, Gu YF. Progress in understanding mechanisms behind anti-tumor effects of gambogic acid. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2412-2417 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2412.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2412>

摘要

藤黄酸是中药藤黄树脂的有效成分之一。本文查阅国内外相关文献, 大量实验研究显示该药物通过不同机制发挥抗肿瘤作用, 包括诱导细胞凋亡, 诱导细胞周期停滞, 抑制端粒酶末端转移酶活性, 抑制拓扑异构酶活性, 抑制血管生成, 逆转肿瘤耐药, 抑制通道蛋白表达等, 对多种肿瘤细胞有潜在抗肿瘤活性, 提示藤黄酸作为一种新型化疗药物进入临床前景广阔。本文就该药抑制肿瘤机制研究作综述, 为深入研究藤黄酸提供理论依据, 也为开发新的化疗药物提供思路。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 藤黄酸; 抗肿瘤机制; 研究进展

核心提示: 藤黄酸是藤黄抗肿瘤的活性成分之一, 可能通过不同机制发挥抗肿瘤作用, 但具体分子机制不明。其在有效剂量范围内毒副作用较小。提示藤黄酸有望成为一种新型高效低毒抗肿瘤药物, 值得深入研究。

侯毅, 竺平, 陈邑岐, 朱秉宜, 谷云飞. 藤黄酸抗肿瘤机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2412-2417 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2412.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2412>

0 引言

藤黄是藤黄科植物藤黄提取的树脂, 呈圆柱状

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

或不规则状, 橙黄色或棕黄色, 质地脆. 主要产于柬埔寨、泰国、越南, 在我国南方也有同属科植物分布生长. 传统中医认为, 藤黄味酸, 涩, 性凉, 大毒, 有解毒消肿, 杀虫止血的功效, 主治痈疽、肿毒、顽癣、恶疮、跌打损伤等^[1,2]. 近年来研究发现该药可通过多种机制起到抗肿瘤效果, 是一种多靶点的抗肿瘤天然药物. 但鉴于生药藤黄毒性巨大, 临床应用受到限制, 故寻找和筛选藤黄中类似的活性单体是解决上述问题的途径之一. 研究发现藤黄酸是其抗肿瘤的活性成分之一, 本文对藤黄酸的抗肿瘤机制的研究进展作一综述.

1 诱导细胞凋亡

细胞凋亡受阻是肿瘤发生的重要机制之一. 细胞内多种基因控制细胞凋亡. 正常细胞中存在促癌基因, 其在生理状态下参与细胞的正常生长、分化和代谢. 而抑癌基因是一种可以抑制细胞生长, 并能潜在抑制癌变的基因. 两者参与肿瘤的发生、发展. 促癌基因增强细胞增殖, 导致肿瘤发生, 而抑癌基因诱导凋亡清除癌细胞. 两者广泛用于肿瘤的基因治疗^[3].

1.1 Bcl-2基因家族 Bcl-2基因家族包括Bcl-xs、Bax、Bak等促凋亡基因和Bcl-xl、Bcl-2、Mcl-1等抑凋亡基因. 研究发现, 在多数肿瘤中, Bax表达水平下降, 而Bcl-2表达水平升高.

藤黄酸可以使肝癌SMMC-7721^[4]、人胃癌MGC-803^[5]、BGC-823^[6]、SGC-7901^[7]、胰腺癌PC-3^[8]、恶性黑色素瘤A375^[9]等细胞株凋亡程序启动, 同时, Bcl-2表达量下降, Bax表达量增加, Bcl-2/Bax降低, 提示藤黄酸的抗肿瘤作用与Bcl-2/Bax的改变有一定关系. Tao等^[10]研究发现藤黄酸衍生物NG-18可诱导人白血病HL-60细胞的凋亡, NG-18通过上调凋亡前Bcl-2家族成员Bax表达、下调抗凋亡蛋白Bcl-2表达从而诱导肿瘤细胞凋亡.

1.2 类固醇激素受体共活化因子-3 类固醇激素受体共活化因子-3(steroid receptor coactivator-3, SRC-3)基因作为一种新发现的促癌基因, 在许多激素敏感性肿瘤例如前列腺癌^[11]、乳腺癌^[12]等中过度表达, 也与很多非激素敏感性肿瘤的发生、发展密切相关, 例如胃癌^[13]、肝癌^[14]、胰腺癌^[15]等. 李睿等^[16]研究表明, SRC-3基因过度表达可以影响转录核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)以及IGF-P13K-Akt等信号通路, 这些信号通路异常与相关肿瘤的发病率密切相关, 以

此, 下调SRC-3的表达, 可以抑制肿瘤生长. 藤黄酸能够通过下调慢性粒细胞白血病急变株K562细胞和多发性骨髓瘤RPMI-8226细胞中SRC-3的高表达, 抑制NF-κB通路或Akt通路活性, 介导恶性血液病细胞凋亡, 抑制侵袭. Li等^[17]评价了藤黄酸对非小细胞癌细胞株A549的影响, 其能显著抑制A549细胞的增殖, 并可通过下调SRC-3 mRNA和蛋白表达的数量诱导A549细胞凋亡.

1.3 转铁蛋白受体 转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)在所有细胞表面表达, 其介导细胞内铁的摄入. 在血液中, 铁与转铁蛋白(transferrin, TRF)结合成复合物后得到运输, 复合物与细胞膜表面的特异性转铁蛋白受体结合, 铁通过细胞的内吞作用进入细胞^[18]. 同时, 转铁蛋白受体作为肿瘤细胞表面的抗原成分引起了研究人员的广泛关注. 研究证实, 在肿瘤细胞中, 转铁蛋白受体显著增加, 明显高于正常组织, 可以作为肿瘤抗原标志物和导向诊疗的靶标^[19]. 研究表明^[20,21], 藤黄酸与Jurkat、Mes、Mes ADR以及293T等肿瘤细胞上的转铁蛋白结合位点是独立TRF和TfR结合位点的. 藤黄酸与TfR非竞争性结合, 抑制了后者的内吞作用, 从而不能满足肿瘤细胞快速分裂时对铁的需求, 抑制NF-κB信号通路, 最终通过caspase9通路迅速诱导细胞凋亡. 细胞内转铁蛋白水平下调会影响藤黄酸诱导的细胞凋亡的敏感性, 这进一步验证了上述结论. 这个靶点的发现可能有利于促进产生一种新型的抗癌药物.

2 抑制端粒末端转移酶活性

端粒酶是由RNA和蛋白质构成的核糖核蛋白酶, 通过识别结合于富含G的端粒末端, 以自身的RNA为模板, 通过逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)催化, 合成端粒, 以维持染色体末端稳定. 细胞分化会使端粒酶活性和hTERT水平降低. 其在正常成年体细胞中没有活性^[22]. 近年来, 人们在大多数肿瘤组织中检测到活化的端粒酶, 由此, 人们普遍认为活化的端粒酶与恶性肿瘤的发生和发展密切相关^[23]. 研究发现原癌基因c-myc是hTERT基因的反式作用因子, 其在多种肿瘤细胞中表达, 编码蛋白质c-myc. 后者通过激活生长促进基因, 促进细胞增殖和转化. c-myc和hTERT启动子有多个结合位点. 许多实验表明, 抑制端粒酶活性, 是一种用于治疗肿瘤的有效手段. 中国本土的很多医药成分和化合物能够抑制或者拮抗肿瘤细胞的端粒酶. 新近发现, 藤黄酸也有同样的效果. 其

■研发前沿

近年来研究表明, 藤黄酸可能通过不同机制发挥抗肿瘤作用, 但至今其具体抗肿瘤分子机制不明, 疗效也不如化疗药物明显, 因此藤黄酸值得研究者继续深入开展动物实验及临床试验研究, 为肿瘤患者设计出个体化减毒增效用药方法, 明确使用群体, 充分利用藤黄酸的优势, 为综合治疗肿瘤提供参考. 其众多的可能作用机制也为开发新的化疗药物提供思路.

■相关报道

藤黄酸在有效剂量范围内对实验动物的造血及免疫功能无明显抑制作用,但有明显的抑癌作用。

不仅能消减*c-myc*基因的表达,并能与这些结合位点相结合,降低hTERT的合成。同时,hTERT转录后,蛋白激酶B(protein kinase B, PKB或AKT)调控其活性。藤黄酸在473位丝氨酸残基处抑制AKT磷酸化,从而抑制824位丝氨酸残基磷酸化,以此使端粒酶失去活性^[24-26]。

3 抑制拓扑异构酶活性

人拓扑异构酶 II (human topoisomerase II α , Topo II α)是一种核酶,参与染色体复制、分离和重组等几个细胞分裂的关键步骤^[27]。目前还不清楚染色体断裂的机理,有假说支持在染色体有丝分裂前,Topo II α 能控制解链检查点,使姐妹染色体分开^[28,29]。目前Topo II α 已经成为许多肿瘤化疗药物的靶酶。有研究发现,藤黄酸能直接交联Topo II α 的ATP酶区,与ATP竞争共享交联位点,以此抑制Topo II α 的催化活性,抑制其介导的DNA断裂^[30]。这为藤黄酸抗肿瘤机制研究及临床评价提供了新思路,值得进一步探讨。

4 诱导细胞周期停滞

细胞有丝分裂依赖于细胞周期蛋白(cyclin)-细胞周期蛋白激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitor, CDKI)和细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)的综合调控。Cyclin和CDKs结合后被激活,其可磷酸化细胞周期进程相关蛋白的Ser/Thr等残基。细胞分裂素2/p34(cell division cycle 2/p34, CDC2/p34)与细胞周期蛋白B一起控制着G₂/M期进程, CDC2/p34激酶活性低则细胞停滞在G₂/M期,反之则细胞分裂。其中CDC2/p34在Thr161残基磷酸化,在Tyr15和Thr14残基去磷酸化后,才有激酶活性。CDK7可使前者磷酸化,使后者去磷酸化,促进细胞通过G₂/M期^[31]。Yu等^[32]对胃癌BGC-823细胞株模型的研究表明,藤黄酸使细胞阻滞于G₂/M期,其机制可能与CDK7 mRNA水平和蛋白水平表达下降有关。两者表达下降能够灭活CDC2/p34酶,最终导致细胞周期停滞,细胞死亡。而Zhang等^[33]认为藤黄酸诱导肿瘤细胞凋亡不是因为阻滞细胞周期。在他们的实验中,对照组阻滞人类乳腺癌系T47D于G₁期。藤黄酸治疗组的大多数细胞含有亚二倍体DNA,呈现细胞凋亡,而紫杉醇处理组的绝大多数细胞处于G₂期,部分细胞呈亚二倍体DNA。这提示藤黄酸诱导细胞凋亡并不是使细胞周期停滞于某个特定的阶段。这种差异可能与各种肿瘤本身的细胞生物学特性和藤黄酸的浓度不同有关。

5 抑制血管生成

肿瘤细胞能分泌大量的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),其能够刺激内皮细胞分裂和迁移,并改变他们的基因表达模式,促进新血管形成,抑制细胞衰老和凋亡。因此,肿瘤能形成新的血管并迅速生长,肿瘤细胞得到增殖^[34]。VEGFR-2(KDR/Flk-1)介导VEGF的大多数生理、病理效应。VEGFR-2是酪氨酸激酶受体,其与VEGF结合后二聚体化并自动磷酸化。活化的VEGFR-2(KDR/Flk-1)激活p38促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),促进细胞迁移,开启AKT信号通路,促进细胞增殖^[35]。Lu等^[36]研究发现,藤黄酸能够抑制VEGF诱导的脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)的增殖和迁移,其机制可能与抑制血管内皮细胞生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)的磷酸化而使ATK、ERK和P38磷酸化水平下降有关。Yi等^[37]研究发现,中草药单体藤黄酸能抑制血管生成,以此来抑制肿瘤生长。作用机制可能是其直接作用于VEGFR2,引起细胞内AKT、c-Src和粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)不能磷酸化,抑制下游的信号通路,最终抑制血管新生,从而“饿死”肿瘤。

6 逆转肿瘤耐药

癌细胞多次接触化疗药物后会对其产生多药耐药性(multidrug resistance, MDR)。这是肿瘤化疗过程中的棘手问题之一。研究发现肿瘤细胞产生耐药性后,存活素survivin转录量显著增加。Survivin具有调节细胞凋亡和细胞周期的双重功能,其过度表达在多种肿瘤的发生、发展和预后中起重要作用^[38]。特异性阻断肿瘤细胞survivin基因表达可增强肿瘤细胞对某些化疗药的敏感性,提示存活素与肿瘤细胞耐药性的产生有密切关系^[39]。Wang等^[40]研究证实,低剂量藤黄酸处理抗多西紫杉醇的胃癌BGC-823/Doc细胞和无耐药性BGC-823细胞,可逆转前者耐药性,使其对西紫杉醇具有与非耐药细胞相当的敏感性。推测低浓度的藤黄酸能抑制survivin基因的表达,促进细胞凋亡,提高耐药细胞的敏感性。与一般化疗药物相比,这是藤黄酸具有的优势。应用大量化疗药物后,通过联合使用该药,增强化疗药物疗效,提示藤黄酸有成为新的化疗增敏剂的可能。

7 抑制通道蛋白表达

通道蛋白存在于所有细胞中, 参与细胞的生理功能, 其功能失调也与肿瘤的发生相关. hERG钾通道蛋白和核孔蛋白作为藤黄酸的新靶点, 发挥着不可替代的抗癌作用.

7.1 抑制离子通道蛋白表达 近来, 研究者将钾通道蛋白的表达与已知的肿瘤基因活性相联系, 认为肿瘤的发生发展与某些钾离子通道蛋白关系密切^[41,42]. *hERG*基因编码的hERG钾通道蛋白是一种特殊类型的电压门控性离子通道, 其选择性的表达于多种组织来源的肿瘤细胞中, 但在正常细胞中不表达. 此外, hERG蛋白与肿瘤细胞的增殖、凋亡、分化及侵袭等的生物学行为密切相关, 影响广泛^[43-45]. 因此, hERG钾通道将在特异性分析靶向药物筛选过程中发挥重要作用, 成为一个前景广阔的治疗靶点. 崔国惠等^[46]以*hERG*基因作为靶点, 观察藤黄酸对K562细胞hERG钾通道蛋白的调控作用. hERG钾通道蛋白和基因的表达水平经藤黄酸干预后均呈浓度依赖性下调. 说明藤黄酸对K562细胞的增殖抑制与细胞内hERG钾通道表达密切相关. 抑制癌细胞中的hERG钾通道蛋白表达可以抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡. 藤黄酸有望成为新一代的hERG钾离子通道蛋白抑制剂.

7.2 抑制核膜孔蛋白表达 核孔复合物是跨越核膜的疏水通道, 参与核质转运, 在信号传导、细胞周期和凋亡等生理过程中发挥重要作用^[47]. 一些核孔蛋白的异常表达, 直接影响原癌基因或抑癌基因产物, 并在信号传导分子等穿梭蛋白的核质转运中发挥作用. 核膜孔蛋白在癌组织中随肿瘤侵袭和转移倾向程度高表达, 但在正常组织中仅有弱表达^[48]. 舒文秀等^[49,50]研究发现, 核孔蛋白Nup88在白血病细胞的核浆之间弥漫分布, 以细胞浆和核膜为主, 藤黄酸干预后, mRNA和Nup88蛋白表达水平明显下降. 藤黄酸能显著抑制HL-60细胞和急性白血病U937细胞的增殖, 其抑制作用呈时间、剂量依赖性. 其还能诱导两者的凋亡, 作用机制可能与藤黄酸诱导核孔蛋白Nup88重新分布以及表达量下调有关.

8 结论

藤黄酸可能通过不同机制发挥抗肿瘤作用, 这说明藤黄酸在抗肿瘤领域前景广阔, 但至今其具体抗肿瘤分子机制不明. 大量实验研究证实其对多种肿瘤细胞有潜在抗肿瘤活性, 并在有

效剂量范围内不良反应比较小, 故提示藤黄酸有望成为一种新型的高效低毒抗肿瘤药物. 因此藤黄酸值得研究者继续深入开展动物实验及临床试验研究, 为肿瘤患者设计出个体化减毒增效用药方法, 明确使用群体, 充分利用藤黄酸低毒的优势, 为综合治疗肿瘤提供参考. 其众多的可能作用机制也为开发新的化疗药物提供思路.

9 参考文献

- 1 李时珍. 本草纲目. 第2册. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 1344
- 2 赵学敏. 本草纲目拾遗. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1957: 204
- 3 El-Aneel A. Current strategies in cancer gene therapy. *Eur J Pharmacol* 2004; 498: 1-8 [PMID: 15363969 DOI: 10.1016/j.ejphar.2004.06.054]
- 4 Guo QL, You QD, Wu ZQ, Yuan ST, Zhao L. General gambogic acids inhibited growth of human hepatoma SMMC-7721 cells in vitro and in nude mice. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 769-774 [PMID: 15169630]
- 5 Zhao L, Guo QL, You QD, Wu ZQ, Gu HY. Gambogic acid induces apoptosis and regulates expressions of Bax and Bcl-2 protein in human gastric carcinoma MGC-803 cells. *Biol Pharm Bull* 2004; 27: 998-1003 [PMID: 15256729 DOI: 10.1248/bpb.27.998]
- 6 Liu W, Guo QL, You QD, Zhao L, Gu HY, Yuan ST. Anticancer effect and apoptosis induction of gambogic acid in human gastric cancer line BGC-823. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3655-3659 [PMID: 15968715]
- 7 Yang Y, Yang L, You QD, Nie FF, Gu HY, Zhao L, Wang XT, Guo QL. Differential apoptotic induction of gambogic acid, a novel anticancer natural product, on hepatoma cells and normal hepatocytes. *Cancer Lett* 2007; 256: 259-266 [PMID: 17693016 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.06.014]
- 8 刘静冰, 秦叔逵, 李进. 藤黄酸抗胰腺癌作用的实验研究. *临床肿瘤学杂志* 2005; 10: 274-277
- 9 Xu X, Liu Y, Wang L, He J, Zhang H, Chen X, Li Y, Yang J, Tao J. Gambogic acid induces apoptosis by regulating the expression of Bax and Bcl-2 and enhancing caspase-3 activity in human malignant melanoma A375 cells. *Int J Dermatol* 2009; 48: 186-192 [PMID: 19200201 DOI: 10.1111/j.1365-4632.2009.03946.x]
- 10 Tao Z, Zhou Y, Lu J, Duan W, Qin Y, He X, Lin L, Ding J. Caspase-8 preferentially senses the apoptosis-inducing action of NG-18, a Gambogic acid derivative, in human leukemia HL-60 cells. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 691-696 [PMID: 17426447 DOI: 10.4161/cbt.6.5.3960]
- 11 Ayala G, Yan J, Li R, Ding Y, Thompson TC, Mims MP, Hayes TG, MacDonnell V, Lynch RG, Frolov A, Miles BJ, Wheeler TM, Harper JW, Tsai MJ, Ittmann MM, Kadmon D. Bortezomib-mediated inhibition of steroid receptor coactivator-3 degradation leads to activated Akt. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7511-7518 [PMID: 19010869 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0839]
- 12 Karmakar S, Foster EA, Smith CL. Unique roles of p160 coactivators for regulation of breast cancer cell proliferation and estrogen receptor-alpha transcriptional activity. *Endocrinology* 2009; 150: 1588-1596

■创新盘点

本文从分子生物学角度出发, 综述了藤黄酸抑制恶性肿瘤细胞生长和促进其凋亡等方面的作用机制, 研究藤黄酸在恶性肿瘤防治中的作用, 为深入研究藤黄酸提供理论依据, 也为开发新的化疗药物提供思路.

■应用要点

前期研究已得出藤黄酸对胃癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、白血病等恶性肿瘤细胞有明显的诱导凋亡和抑制生长的作用,本文进一步探讨其诱导凋亡、抑制生长、抗转移等作用机制,为进一步在体及临床研究提高更为可靠的依据。

- [PMID: 19095746 DOI: 10.1210/en.2008-1001]
- 13 Sakakura C, Hagiwara A, Yasuoka R, Fujita Y, Nakanishi M, Masuda K, Kimura A, Nakamura Y, Inazawa J, Abe T, Yamagishi H. Amplification and over-expression of the AIB1 nuclear receptor co-activator gene in primary gastric cancers. *Int J Cancer* 2000; 89: 217-223 [PMID: 10861496 DOI: 10.1002/1097-0215(20000520)89:]
 - 14 Wang Y, Wu MC, Sham JS, Zhang W, Wu WQ, Guan XY. Prognostic significance of c-myc and AIB1 amplification in hepatocellular carcinoma. A broad survey using high-throughput tissue microarray. *Cancer* 2002; 95: 2346-2352 [PMID: 12436441 DOI: 10.1002/cncr.10963]
 - 15 Henke RT, Haddad BR, Kim SE, Rone JD, Mani A, Jessup JM, Wellstein A, Maitra A, Riegel AT. Overexpression of the nuclear receptor coactivator AIB1 (SRC-3) during progression of pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6134-6142 [PMID: 15448000 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0561]
 - 16 李睿, 陈燕. 类固醇激素受体共活化因子3(SRC-3)在天然药物治疗恶性血液病中的意义. 华中科技大学, 2009: 20-47
 - 17 Li R, Chen Y, Zhao F, Liu Y, Wen L, Zeng LL. [Effects of gambogic acid on the regulation of steroid receptor coactivator-3 in A549 cells]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2009; 31: 810-814 [PMID: 20137343 DOI: 10.1007/s11670-009-0068-x]
 - 18 Gomme PT, McCann KB, Bertolini J. Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. *Drug Discov Today* 2005; 10: 267-273 [PMID: 15708745 DOI: 10.1016/S1359-6446(04)03333-1]
 - 19 Trowbridge IS, Lopez F. Monoclonal antibody to transferrin receptor blocks transferrin binding and inhibits human tumor cell growth in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79: 1175-1179 [PMID: 6280171 DOI: 10.1073/pnas.79.4.1175]
 - 20 Kasibhatla S, Jessen KA, Maliartchouk S, Wang JY, English NM, Drewe J, Qiu L, Archer SP, Ponce AE, Sirisoma N, Jiang S, Zhang HZ, Gehlsen KR, Cai SX, Green DR, Tseng B. A role for transferrin receptor in triggering apoptosis when targeted with gambogic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 12095-12100 [PMID: 16103367 DOI: 10.1073/pnas.0406731102]
 - 21 Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Kunnumakkara AB, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Gambogic acid, a novel ligand for transferrin receptor, potentiates TNF-induced apoptosis through modulation of the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Blood* 2007; 110: 3517-3525 [PMID: 17673602 DOI: 10.1182/blood-2007-03-079616]
 - 22 Counter CM, Meyerson M, Eaton EN, Ellisen LW, Caddle SD, Haber DA, Weinberg RA. Telomerase activity is restored in human cells by ectopic expression of hTERT (hEST2), the catalytic subunit of telomerase. *Oncogene* 1998; 16: 1217-1222 [PMID: 9528864 DOI: 10.1038/sj.onc.1201882]
 - 23 Shay JW, Wright WE. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 349-353 [PMID: 22015685 DOI: 10.1016/j.semcancer.2011.10.001]
 - 24 Zhao Q, Yang Y, Yu J, You QD, Zeng S, Gu HY, Lu N, Qi Q, Liu W, Wang XT, Guo QL. Posttranscriptional regulation of the telomerase hTERT by gambogic acid in human gastric carcinoma 823 cells. *Cancer Lett* 2008; 262: 223-231 [PMID: 18226852 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.08.015]
 - 25 Yu J, Guo QL, You QD, Lin SS, Li Z, Gu HY, Zhang HW, Tan Z, Wang X. Repression of telomerase reverse transcriptase mRNA and hTERT promoter by gambogic acid in human gastric carcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58: 434-443 [PMID: 16470410 DOI: 10.1007/s00280-005-0177-2]
 - 26 Guo QL, Lin SS, You QD, Gu HY, Yu J, Zhao L, Qi Q, Liang F, Tan Z, Wang X. Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by gambogic acid in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Life Sci* 2006; 78: 1238-1245 [PMID: 16257012]
 - 27 Bates AD, Maxwell A. Energy coupling in type II topoisomerases: why do they hydrolyze ATP? *Biochemistry* 2007; 46: 7929-7941 [PMID: 17580973 DOI: 10.1021/bi700789g]
 - 28 Luo K, Yuan J, Chen J, Lou Z. Topoisomerase IIalpha controls the decatenation checkpoint. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 204-210 [PMID: 19098900 DOI: 10.1038/ncb1828]
 - 29 Terry SY, Riches AC, Bryant PE. Suppression of topoisomerase IIalpha expression and function in human cells decreases chromosomal radiosensitivity. *Mutat Res* 2009; 663: 40-45 [PMID: 19428368 DOI: 10.1016/j.mrfmmm]
 - 30 Qin Y, Meng L, Hu C, Duan W, Zuo Z, Lin L, Zhang X, Ding J. Gambogic acid inhibits the catalytic activity of human topoisomerase IIalpha by binding to its ATPase domain. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 2429-2440 [PMID: 17876042 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0147]
 - 31 胡以平. 医学细胞生物学. 第1版. 北京: 高等教育出版社, 2009: 228-241
 - 32 Yu J, Guo QL, You QD, Zhao L, Gu HY, Yang Y, Zhang HW, Tan Z, Wang X. Gambogic acid-induced G2/M phase cell-cycle arrest via disturbing CDK7-mediated phosphorylation of CDC2/p34 in human gastric carcinoma BGC-823 cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 632-638 [PMID: 17012222 DOI: 10.1093/carcin/bgl168]
 - 33 Zhang HZ, Kasibhatla S, Wang Y, Herich J, Guastella J, Tseng B, Drewe J, Cai SX. Discovery, characterization and SAR of gambogic acid as a potent apoptosis inducer by a HTS assay. *Bioorg Med Chem* 2004; 12: 309-317 [PMID: 14723951 DOI: 10.1016/j.bmc.2003.11.013]
 - 34 Shimanuki Y, Takahashi K, Cui R, Hori S, Takahashi F, Miyamoto H, Fukurchi Y. Role of serum vascular endothelial growth factor in the prediction of angiogenesis and prognosis for non-small cell lung cancer. *Lung* 2005; 183: 29-42 [PMID: 15793665 DOI: 10.1007/s00408-004-2521-4]
 - 35 Nesbit M. Abrogation of tumor vasculature using gene therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2000; 19: 45-49 [PMID: 11191062 DOI: 10.1023/A:]
 - 36 Lu N, Yang Y, You QD, Ling Y, Gao Y, Gu HY, Zhao L, Wang XT, Guo QL. Gambogic acid inhibits angiogenesis through suppressing vascular endothelial growth factor-induced tyrosine phosphorylation of KDR/Flk-1. *Cancer Lett* 2007; 258: 80-89 [PMID: 17920764 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.08.015]
 - 37 Yi T, Yi Z, Cho SG, Luo J, Pandey MK, Aggarwal BB, Liu M. Gambogic acid inhibits angiogenesis and prostate tumor growth by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2 signaling. *Cancer Res* 2008; 68: 1843-1850 [PMID: 18339865 DOI: 10.1158/0008-5472]

- 38 Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8581-8589 [PMID: 14634620 DOI: 10.1038/sj.onc.1207113]
- 39 黄恺飞, 陆云华, 何睿, 奚涛. 藤黄酸对胃癌BGC-803细胞凋亡的作用及对survivin基因表达的影响. *中国医科大学学报* 2008; 37: 474-478
- 40 Wang T, Wei J, Qian X, Ding Y, Yu L, Liu B. Gambogic acid, a potent inhibitor of survivin, reverses docetaxel resistance in gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2008; 262: 214-222 [PMID: 18248784 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.12.004]
- 41 Wang Z. Roles of K⁺ channels in regulating tumour cell proliferation and apoptosis. *Pflugers Arch* 2004; 448: 274-286 [PMID: 15048575 DOI: 10.1007/s00424-004-1258-5]
- 42 瓮占平, 王波. TASK-3钾离子通道的研究现状. *国际病理科学与临床杂志* 2006; 26: 225-231
- 43 Pillozzi S, Brizzi MF, Balzi M, Crociani O, Cherubini A, Guasti L, Bartolozzi B, Becchetti A, Wanke E, Bernabei PA, Olivotto M, Pegoraro L, Arcangeli A. HERG potassium channels are constitutively expressed in primary human acute myeloid leukemias and regulate cell proliferation of normal and leukemic hemopoietic progenitors. *Leukemia* 2002; 16: 1791-1798 [PMID: 12200695 DOI: 10.1038/sj.leu.2402572]
- 44 Lastraioli E, Guasti L, Crociani O, Polvani S, Hofmann G, Witchel H, Bencini L, Calistri M, Messerini L, Scatizzi M, Moretti R, Wanke E, Olivotto M, Mugnai G, Arcangeli A. herg1 gene and HERG1 protein are overexpressed in colorectal cancers and regulate cell invasion of tumor cells. *Cancer Res* 2004; 64: 606-611 [PMID: 14744775 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2360]
- 45 Wang H, Zhang Y, Cao L, Han H, Wang J, Yang B, Nattel S, Wang Z. HERG K⁺ channel, a regulator of tumor cell apoptosis and proliferation. *Cancer Res* 2002; 62: 4843-4848 [PMID: 12208728]
- 46 崔国惠, 舒文秀, 吴青, 陈燕. 藤黄酸对K562细胞hERG钾通道蛋白的调控作用. *中草药* 2009; 40: 915-919
- 47 Allen TD, Cronshaw JM, Bagley S, Kiseleva E, Goldberg MW. The nuclear pore complex: mediator of translocation between nucleus and cytoplasm. *J Cell Sci* 2000; 113: 1651-1659 [PMID: 10769196]
- 48 Agudo D, Gómez-Esquer F, Martínez-Arribas F, Núñez-Villar MJ, Pollán M, Schneider J. Nup88 mRNA overexpression is associated with high aggressiveness of breast cancer. *Int J Cancer* 2004; 109: 717-720 [PMID: 14999780 DOI: 10.1002/ijc.20034]
- 49 舒文秀, 陈燕, 何静. 藤黄酸调节急性白血病细胞HL-60核孔蛋白Nup88的意义. *中华肿瘤杂志* 2008; 30: 484-486
- 50 舒文秀, 陈燕, 何静, 崔国惠. 藤黄酸对急性白血病细胞U937增殖和凋亡的影响及对核孔蛋白Nup88的调控作用. *中草药* 2008; 39: 74-78

■同行评价

本文结构层次清晰, 条理分明, 较全面的综述了藤黄酸的抗肿瘤作用的研究进展, 具有很好的学术价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

经kinectin融合蛋白刺激的人B细胞诱导效应T细胞对肝癌细胞的杀伤

何少健, 韦力嘉, 宋琼, 肖瑞雪, 晁耐霞, 陈芳, 莫发荣, 农蔚霞

■背景资料

肝细胞癌是人类常见的恶性肿瘤。近年来, 肿瘤免疫治疗已经发展成为继手术、放疗和化疗之后的新型模式。使用免疫原性较强的肝癌相关抗原激发机体抗肝癌免疫反应是肝癌免疫治疗的重要环节。目前研究发现人动力素(kinectin)是肝癌相关抗原, 可望用此蛋白抗原在体外激发免疫反应并诱导出具有抗肝癌细胞活性的效应T细胞而发挥杀伤肝癌细胞的作用。

何少健, 韦力嘉, 宋琼, 肖瑞雪, 晁耐霞, 陈芳, 莫发荣, 农蔚霞, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

何少健, 副教授, 主要从事肿瘤分子生物学研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542068

作者贡献分布: 何少健与农蔚霞对此文所作贡献均等; 此课题由何少健与农蔚霞共同设计; 研究过程由农蔚霞、韦力嘉、宋琼、肖瑞雪、晁耐霞、陈芳及莫发荣完成; 研究所用新试剂及分析工具由何少健提供; 数据分析由农蔚霞完成; 本论文写作由何少健与农蔚霞完成。

通讯作者: 农蔚霞, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路22号, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室。

15878818484@163.com

电话: 0771-5358577

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-07-12

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Human B lymphocytes stimulated with kinectin protein induces effector T lymphocytes to kill hepatocellular carcinoma cells *in vitro*

Shao-Jian He, Li-Jia Wei, Qiong Song, Rui-Xue Xiao, Nai-Xia Chao, Fang Chen, Fa-Rong Mo, Wei-Xia Nong

Shao-Jian He, Li-Jia Wei, Qiong Song, Rui-Xue Xiao, Nai-Xia Chao, Fang Chen, Fa-Rong Mo, Wei-Xia Nong, Department of Histology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi, No. 05420688

Correspondence to: Wei-Xia Nong, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 15878818484@163.com

Received: 2013-05-14 Revised: 2013-07-12

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate whether human B lymphocytes stimulated with kinectin protein induces effector T lymphocytes to kill hepatocellular carcinoma cells.

METHODS: Mononuclear cells were separated from healthy human peripheral blood and cultured *in vitro*. During cultivation, B cell activat-

ing factor (BAFF) and MBP-kinectin were added. After being disassociated from cultured mononuclear cells using the method of nylon wool column, T lymphocytes were incubated together with hepatocellular carcinoma cell strain 7404. The killing effect of T lymphocytes on hepatocellular carcinoma cells was detected by LDH release assay.

RESULTS: The percentage of hepatocellular carcinoma cells killed by T lymphocytes was as follows: $3.40\% \pm 0.27\%$ in the normal control group, $38.48\% \pm 2.64\%$ in the experimental group, and $13.03\% \pm 2.38\%$ in the negative control group. The percentage of hepatocellular carcinoma cells killed by T lymphocytes was significantly higher in the experimental group than in the normal control group and negative control group.

CONCLUSION: Human B lymphocytes stimulated with kinectin fusion protein are able to induce effector T lymphocytes to kill hepatocellular carcinoma cells *in vitro*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: B-cell activating factor; Kinectin; B cells; Effector T lymphocytes; Hepatocellular carcinoma cells

He SJ, Wei LJ, Song Q, Xiao RX, Chao NX, Chen F, Mo FR, Nong WX. Human B lymphocytes stimulated with kinectin protein induces effector T lymphocytes to kill hepatocellular carcinoma cells *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2418-2423 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2418.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2418>

摘要

目的: 探讨经人动力素(kinectin)融合蛋白刺激的人外周血B细胞诱导效应T细胞杀伤肝癌细胞的效果。

方法: 取健康人外周血, 分离出单个核细胞, 加B细胞刺激因子及kinectin麦芽糖融合蛋白进行体外培养, 尔后用尼龙毛柱分离T细胞,

■同行评议者

张火俊, 副教授, 副主任医师, 长海医院放射科

将其与肝癌细胞株7404混合培养. 用乳酸脱氢酶法检测杀伤肝癌细胞的活性.

结果: T细胞对肝癌细胞的杀伤率: 空白对照组: $3.40\% \pm 0.27\%$; 实验组: $38.48\% \pm 2.64\%$; 阴性对照组: $13.03\% \pm 2.38\%$. 经统计软件分析, 实验组杀伤率与其他组有明显差异.

结论: 经kinectin融合蛋白刺激的人外周血B细胞诱导的效应T细胞在体外对肝癌细胞株7404有杀伤的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: BAFF; 人动力素; B细胞; 效应T细胞; 肝癌细胞

核心提示: kinectin蛋白作为肝癌相关抗原有较强的免疫原性, 在体外可致敏B淋巴细胞, 从而诱导出效应T细胞发挥杀伤肝癌细胞株7404的作用.

何少健, 韦力嘉, 宋琼, 肖瑞雪, 晁耐霞, 陈芳, 莫发荣, 农蔚霞. 经kinectin融合蛋白刺激的人B细胞诱导效应T细胞对肝癌细胞的杀伤. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2418-2423 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2418.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2418>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一^[1]. 目前, 用肝细胞癌相关抗原致敏抗原提呈细胞, 再诱导出具有抗肿瘤活性的免疫细胞, 用于杀伤肝癌细胞, 这是治疗肝细胞癌的一个新尝试. 本课题组2000年使用重组表达cDNA克隆的血清学分析技术(serological analysis of recombinantly expressed cDNA clone)成功地从广西HCC的cDNA文库中筛选出多个肝癌相关抗原的克隆, 测序结果显示, 其中的5个片段基本上与人动力素(kinectin)羧基末端同源^[2]. 对其中编号为1-8a的克隆进行了不同血清的kinectin抗体初步检测, 发现HCC患者血清中的kinectin抗体阳性率为68%^[3]. 并已制备并分离纯化kinectin麦芽糖基因重组融合蛋白^[4,5]. 本研究用此蛋白作为抗原来致敏人外周血B细胞, 期望致敏的B细胞将抗原提呈给T细胞, 并诱导出具有抗肝细胞癌活性的效应T细胞而发挥杀伤肝癌细胞的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 健康人外周血; 肝癌细胞株7404; 课题组自存的kinectin麦芽糖融合蛋白; 1640培养基(上

海生物工程技术公司); 胎牛血清(HyClone公司); 人淋巴细胞分离液(天津美德太平洋科技公司); 白介素(interleukin, IL)-2、IL-4、B细胞刺激因子(B cell activating factor belong to the TNF family, BAFF)(美国PEPROTECH公司); MTT(美国Sigma公司); 乳酸脱氢酶试剂盒(Promega公司); 尼龙毛(Gerlinde kisker GbR); APC标记的抗人CD19、PE标记的抗人CD80、PE标记的抗人CD86、FITC标记的抗人HLA-DR(eBioscience公司).

1.2 方法

1.2.1 人外周血单个核细胞的分离培养: 取人外周血50 mL(抗凝), 用Hanks液稀释1倍, 混匀. 加至等量淋巴细胞分离液上面, 20 °C, 2000 r/min, 离心20 min. 吸取分离液中的白膜层, 用Hanks液洗涤、离心(1000 r/min, 5 min)2次后, 用1640培养液[10%胎牛血清、IL-2(200 U/mL)、IL-4(100 ng/mL)及BAFF(100 ng/mL)]重悬, 制成细胞密度为 1.5×10^6 个/mL的细胞悬液, 于37 °C、5%CO₂培养箱中培养, 待用.

1.2.2 经kinectin抗原与BAFF刺激后, B细胞抗原提呈能力的检测: 在1.2.1制备的细胞悬液中加入kinectin融合蛋白(100 μg/mL), 培养48 h后吸取悬浮细胞, 流式细胞术检测B细胞表面CD80、CD86和HLA-DR分子的表达, 并与未加kinectin融合蛋白和BAFF的组比较.

1.2.3 经kinectin抗原与BAFF刺激后, 淋巴细胞增殖的检测: 将1.2.1制备的细胞悬液置于24孔板, 分成3组(每组复设8孔). 第1组为空白对照组, 即只用含10%胎牛血清及IL-2(200 U/mL)、IL-4(100 ng/mL)、BAFF(100 ng/mL)的1640培养液培养. 第2组为实验组, 即每孔加入kinectin融合蛋白(100 μg/mL). 第3组为阴性对照组, 即每孔加入麦芽糖蛋白(100 μg/mL). 培养至第4 d, 吸取悬浮细胞(即淋巴细胞)置于96孔板, 分3组, 每组复设5孔. 用MTT法检测细胞增殖情况.

1.2.4 效应T细胞杀伤肿瘤效靶比的选择: 将1.2.1制备的细胞悬液置24孔板中, 每孔加入kinectin融合蛋白(100 μg/mL)培养至第7 d, 吸取悬浮细胞即淋巴细胞, 用尼龙毛柱分离出T细胞, 作为效应细胞. 取处于对数生长期生长状态良好的肝癌细胞株7404作为靶细胞(细胞数量为 2×10^4 个), 接种于96孔板, 设3组, 每组复设3孔. 3组分别按效靶比10:1, 25:1, 60:1加入T细胞. 采用乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)4 h释放法测算3组效应细胞的杀伤活性.

1.2.5 人外周血B细胞经kinectin融合蛋白致敏后,

■ 研发前沿

T淋巴细胞需要抗原提呈细胞提呈抗原和辅助分子双信号才能有效地活化为具有抗肿瘤活性的效应T细胞. 作为抗原提呈细胞之一的B淋巴细胞其致敏及活化是在肿瘤免疫应答中起关键作用. B细胞激活因子是一种B细胞的共刺激因子, 对活化的B细胞有强烈的促进增殖和刺激分泌作用, 目前这方面有不少研究成果.

■相关报道

赵飞兰等研究发现肝癌相关抗原kinectin可致敏树突细胞并诱导出细胞毒性T淋巴细胞,该T淋巴细胞对肝癌细胞株7404有杀伤作用。

再由其诱导效应T细胞杀伤肝癌细胞的检测:将1.2.1制备的细胞悬液置24孔板中,设4个组。第一组为空白对照组,即只用含10%胎牛血清、IL-2(200 U/mL)、IL-4(100 ng/mL)及BAFF(100 ng/mL)的1640培养液培养。第2组为实验组,即每孔加入kinectin融合蛋白(100 μg/mL)。第3组为阴性对照组1,即每孔加入麦芽糖蛋白(100 μg/mL)。第4组为阴性对照组2,即培养液中不加入BAFF,每孔加入kinectin融合蛋白(100 μg/mL)。培养至第7 d,吸取悬浮细胞(即淋巴细胞),用尼龙毛柱分离出T细胞置于96孔板,每组复设3孔。按效靶比60:1与处于对数生长期生长状态良好的肝癌细胞株7404混合。采用LDH 4 h释放法分别检测4组T细胞杀伤肝癌细胞的活性。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件对数据进行统计学处理。计量资料数据用mean±SD表示,组间差异采用多个样本均数比较及两两比较,检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 B细胞经kinectin抗原与BAFF刺激后抗原提呈能力检测 用流式细胞术“设门”于CD19阳性淋巴细胞,分析实验组与对照组B细胞表面CD80、CD86和HLA-DR分子的表达情况,结果以阳性细胞百分比表示。经kinectin抗原与BAFF刺激后的B细胞表面CD80、CD86和HLA-DR分子的表达均明显高于对照组(图1,表1)。

2.2 kinectin抗原与BAFF刺激下淋巴细胞增殖情况 培养24 h,实验组与阴性对照组的淋巴细胞呈大小不等的团簇状悬浮生长(图2),且随培养时间延长而增多。将培养4 d的3组淋巴细胞置于96孔板,每组复设5孔。用MTT法检测其增殖。结果实验组经kinectin融合蛋白致敏的B细胞刺激的淋巴细胞增殖能力最强,该组的增殖指数明显高于其他组(表2)。

2.3 效应T细胞杀伤肿瘤效靶比的选择 效靶比在60:1的杀伤肿瘤的效果明显高于其他两种效靶比(表3)。

2.4 人外周血B细胞经kinectin融合蛋白致敏后,再由其诱导效应T细胞杀伤肝癌细胞的结果 实验组经kinectin-MBP致敏的B细胞所诱导的效应T细胞对肝癌细胞具有明显的杀伤作用,其杀伤率 $38.48\% \pm 2.64\%$ 显著高于其他组(表4)。

3 讨论

目前,肿瘤过继性细胞免疫治疗成为肿瘤治疗

表1 两组B细胞抗原提呈相关分子表达的流式细胞检测结果(mean±SD, %, $n=3$)

检测项目	对照组	实验组
CD80/CD19	27.67±2.51	71.30±1.95 ^b
CD86/CD19	24.92±3.06	70.32±1.93 ^b
HLA-DR/CD19	6.98±0.92	81.50±3.47 ^b

^b $P<0.01$ vs 对照组。

表2 各组淋巴细胞的增殖指数(mean±SD, %, $n=3$)

分组	增殖指数
空白对照组	1.15±0.05 ^a
实验组	1.52±0.14
阴性对照组	1.22±0.04 ^a

^a $P<0.05$ vs 实验组。

的研究热点。寻找肝癌相关抗原成为肝癌过继性细胞免疫治疗中重要的一步。

本课题组前期对kinectin全氨基酸序列进行了生物信息学分析,从表位预测分析发现,kinectin 1-8a含有一个得分较高的T细胞表位,5个B细胞表位^[5]。推测kinectin 1-8a蛋白抗原有较强的免疫原性。且用该蛋白致敏的树突状细胞对具有很强的刺激自体T细胞增殖的能力^[6]。本研究中淋巴细胞增殖情况的实验结果显示,实验组的淋巴细胞增殖率最高,明显高于空白对照组(无抗原)及阴性对照组(麦芽糖蛋白作为抗原),这说明kinectin蛋白免疫原性强于麦芽糖蛋白。可用该融合蛋白作为抗原刺激人外周血淋巴细胞,以诱导出具有抗肝癌细胞活性的效应T细胞。

T细胞参与的是细胞免疫,但其无法识别抗原。他依赖抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)获取抗原信息。作为专职抗原提呈细胞之一的B细胞,由于其在外周血中大量存在、获取途径简单以及抗原提呈效能高等优点正在被人们逐渐认识和利用。BAFF是TNF家族中的一员^[7,8],又称为B淋巴细胞刺激因子,由单核细胞和巨噬细胞合成和分泌。BAFF以膜结合和可溶性两种形式存在。膜结合型BAFF由285个氨基酸组成,经蛋白酶水解膜外区的133-134氨基酸残基肽链后,可产生由152个氨基酸组成的可溶性活性多肽。在体内外,可溶性BAFF均具有特异地刺激B淋巴细胞的作用,是B细胞发育存活所必需的^[9-11]。BAFF可与B淋巴细胞表面的相

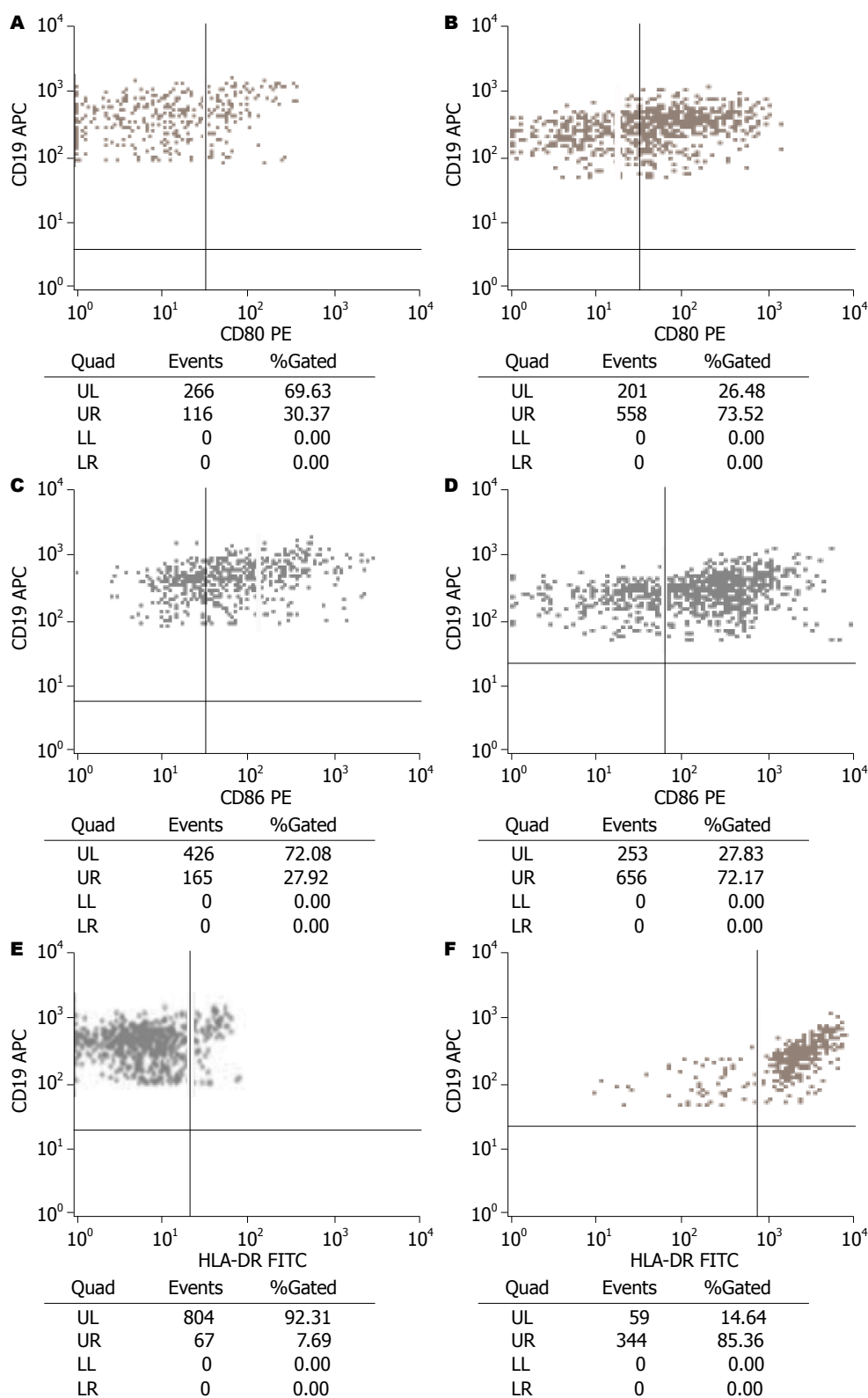


图 1 B细胞抗原提呈相关分子表达的流式细胞检测结果. A: 对照组CD80; B: 实验组CD80; C: 对照组CD86; D: 实验组CD86; E: 对照组HLA-DR; F: 实验组HLA-DR. APC: 抗原提呈细胞.

应受体BCMA、TACI^[12-15]、BAFF-R^[16-18]结合. 作为一种B细胞的共刺激因子, BAFF对活化的B细胞有强烈的促进增殖和刺激分泌作用^[19]. 在anti-IgM或IL-4的存在下能够专一的刺激B细胞

的增殖和分化^[20]. 本实验的抗原提呈能力检测结果显示, 未经活化的B细胞表面HLA-DR、黏附分子CD80、CD86均呈低水平表达, 而与抗原kinectin及BAFF共培养的B细胞表面HLA-DR、

■名词解释

kinectin蛋白: 一种与囊泡转运相关的膜受体蛋白, 其最早发现定位于鸡胚胎细胞的内质网膜上, 主要参与了细胞内囊泡的转运。

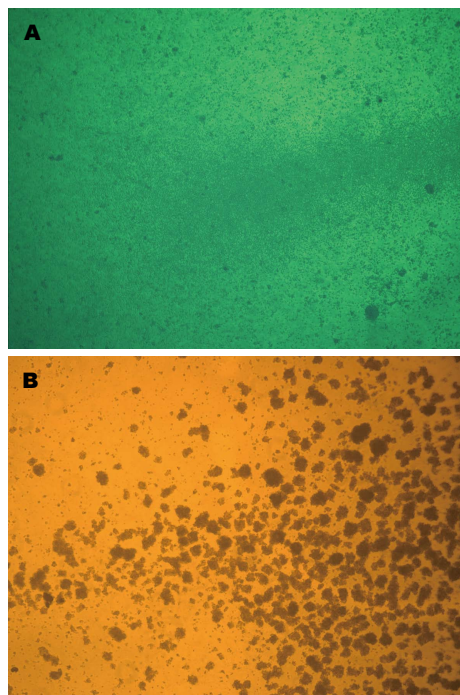


图2 培养24 h和4 d的淋巴细胞($\times 40$). A: 24 h; B: 4 d.

黏附分子CD80、CD86的表达显著增加. 本实验的阴性对照组2(培养液中加入kinectin融合蛋白, 但不加入BAFF)对肝癌细胞的杀伤率明显低于实验组(培养液中同时加入kinectin融合蛋白与BAFF), 这一结果表明, 经kinectin抗原与BAFF刺激后, B细胞已经活化并对kinectin抗原提呈能力大为增强, 对T细胞的活化能力也同时增强.

B细胞将肝癌相关抗原kinectin麦芽糖融合蛋白以抗原肽/MHC分子复合物的形式提呈给T细胞. T细胞通过TCR与抗原肽/MHC分子复合物特异性结合, 并通过CD3分子向细胞内传递信号, 从而被激活和发生增殖, 进而分化为效应性T细胞. 效应T细胞杀伤肝癌细胞株7404的实验结果显示, 实验组对肝癌细胞株7404的杀伤率明显高于空白对照组, 说明实验中淋巴细胞中的NK细胞等对肝癌细胞的非特异性杀伤对本研究的实验结果影响不大. 实验组对肝癌细胞株7404的杀伤率明显高于阴性对照组1(麦芽糖蛋白作为抗原), 说明实验组的效应T细胞对肝癌细胞株7404的有杀伤作用.

4 参考文献

- 1 汤钊猷. 开展肝癌转移复发研究的意义与途径. 中国健康月刊 2007; (2): 39-39
- 2 Stenner-Liewen F, Luo G, Sahin U, Tureci O, Koslovski M, Kautz I, Liewen H, Pfreundschuh M. Definition of tumor-associated antigens in hepatocellular carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 285-290 [PMID: 10750667]

表3 效靶比对效应T细胞杀伤肝癌细胞影响 (mean \pm SD, %, $n = 3$)

效靶比	杀伤率
10 : 1组	17.85 \pm 3.78 ^a
25 : 1组	23.64 \pm 2.70 ^a
60 : 1组	38.32 \pm 4.27

^a $P < 0.05$ vs 60 : 1组.

表4 各组效应T细胞对肝癌细胞的杀伤活性 (mean \pm SD, %, $n = 3$)

分组	杀伤率
空白对照组	5.88 \pm 0.29 ^b
实验组	38.48 \pm 2.64
阴性对照组1	13.03 \pm 2.38 ^b
阴性对照组2	8.54 \pm 1.45 ^b

^b $P < 0.01$ vs 实验组.

- 3 谢小薰, 王延伟, 黎鹏, 蓝玲, 赵飞兰, 莫发荣, 范蓉, 罗国容. 肝细胞癌相关抗原kinectin的血清学分析. *科学技术与工程* 2003; 3: 143-145
- 4 黄天明, 黄绍明, 莫发荣, 何少健, 周素芳, 邓琼英, 李松峰, 黄敏丽, 李山, 薛慧琴, 梁皓, 范蓉, 闫磊, 谢小薰, 罗国容. 肝癌相关抗原kinectin基因片段的重组表达. *广西医科大学学报* 2006; 23: 345-347
- 5 黄健. 肝癌相关抗原KINECTIN蛋白的生物信息学分析及KINECTIN基因片段的原核表达. 中国优秀硕士学位论文全文数据库, 2009
- 6 赵飞兰, 晁耐霞, 薛慧琴, 吴春林, 林永达, 罗彬, 陈芳, 谢小薰, 罗国容. 肝癌相关抗原kinectin基因重组蛋白致敏的树突状细胞对T细胞增殖活化的影响. *山东医药* 2010; 50: 21-23
- 7 Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer JL, Holler N, Ambrose C, Lawton P, Bixler S, Acha-Orbea H, Valmori D, Romero P, Werner-Favre C, Zubler RH, Browning JL, Tschopp J. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med* 1999; 189: 1747-1756 [PMID: 10359578 DOI: 10.1084/jem.189.11.1747]
- 8 Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, Soppet D, Charters M, Gentz R, Parmelee D, Li Y, Galperina O, Giri J, Roschke V, Nardelli B, Carrell J, Sosnovtseva S, Greenfield W, Ruben SM, Olsen HS, Fikes J, Hilbert DM. BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999; 285: 260-263 [PMID: 10398604 DOI: 10.1126/science.285.5425.260]
- 9 孙剑. B淋巴细胞刺激因子. *细胞生物学杂志* 2003; 25: 85-87
- 10 Vaux DL. The buzz about BAFF. *J Clin Invest* 2002; 109: 17-18 [PMID: 11781346 DOI: 10.1172/JCI14780]
- 11 Karpusas M, Cachero TG, Qian F, Boriack-Sjodin A, Mullen C, Strauch K, Hsu YM, Kalled SL. Crystal structure of extracellular human BAFF, a TNF family member that stimulates B lymphocytes. *J Mol Biol* 2002; 315: 1145-1154 [PMID: 11827482]

- 12 Thompson JS, Schneider P, Kalled SL, Wang L, Lefevre EA, Cachero TG, MacKay F, Bixler SA, Zafari M, Liu ZY, Woodcock SA, Qian F, Batten M, Madry C, Richard Y, Benjamin CD, Browning JL, Tsapis A, Tschopp J, Ambrose C. BAFF binds to the tumor necrosis factor receptor-like molecule B cell maturation antigen and is important for maintaining the peripheral B cell population. *J Exp Med* 2000; 192: 129-135 [PMID: 10880534 DOI: 10.1084/jem.192.1.129]
- 13 Yan M, Marsters SA, Grewal IS, Wang H, Ashkenazi A, Dixit VM. Identification of a receptor for BLyS demonstrates a crucial role in humoral immunity. *Nat Immunol* 2000; 1: 37-41 [PMID: 10881172 DOI: 10.1038/76889]
- 14 Marsters SA, Yan M, Pitti RM, Haas PE, Dixit VM, Ashkenazi A. Interaction of the TNF homologues BLyS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI. *Curr Biol* 2000; 10: 785-788 [PMID: 10898980 DOI: 10.1016/S0960-9822(00)00566-2]
- 15 Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon SR, Madden K, Xu W, Parrish-Novak J, Foster D, Lofton-Day C, Moore M, Littau A, Grossman A, Haugen H, Foley K, Blumberg H, Harrison K, Kindsvogel W, Clegg CH. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature* 2000; 404: 995-999 [PMID: 10801128 DOI: 10.1038/35010115]
- 16 Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, Hession C, Schneider P, Sizing ID, Mullen C, Strauch K, Zafari M, Benjamin CD, Tschopp J, Browning JL, Ambrose C. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science* 2001; 293: 2108-2111 [PMID: 11509692 DOI: 10.1126/science.1061965]
- 17 Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S, Cancro M, Grewal IS, Dixit VM. Identification of a novel receptor for B lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe B cell deficiency. *Curr Biol* 2001; 11: 1547-1552 [PMID: 11591325 DOI: 10.1016/S0960-9822(01)00481-X]
- 18 Kayagaki N, Yan M, Seshasayee D, Wang H, Lee W, French DM, Grewal IS, Cochran AG, Gordon NC, Yin J, Starovastnik MA, Dixit VM. BAFF/BLyS receptor 3 binds the B cell survival factor BAFF ligand through a discrete surface loop and promotes processing of NF-kappaB2. *Immunity* 2002; 17: 515-524 [PMID: 12387744 DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00425-9]
- 19 Khare SD, Sarosi I, Xia XZ, McCabe S, Miner K, Solovyyev I, Hawkins N, Kelley M, Chang D, Van G, Ross L, Delaney J, Wang L, Lacey D, Boyle WJ, Hsu H. Severe B cell hyperplasia and autoimmune disease in TALL-1 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 3370-3375 [PMID: 10716715 DOI: 10.1073/pnas.97.7.3370]
- 20 Rolink AG, Melchers F. BAFFled B cells survive and thrive: roles of BAFF in B-cell development. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 266-275 [PMID: 11869903]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

促肾上腺皮质激素释放因子对肠上皮细胞紧密连接相关蛋白的调节

杨丽, 郑鹏远, 刘志强

■背景资料

很多肠道疾病特别是炎症性肠病都与肠黏膜屏障损伤有关, 而肠上皮毗邻细胞之间形成紧密连接的屏障需要紧密连接相关蛋白的作用, 已经证实应激因素与多种肠病的发生有关, 但是否与肠黏膜屏障的破坏有关尚不清楚。

杨丽, 郑州人民医院消化内科 河南省郑州市 450003
郑鹏远, 刘志强, 郑州大学第二附属医院消化科 河南省郑州市 450003
杨丽, 副主任医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。
作者贡献分布: 此课题由杨丽与郑鹏远设计; 研究过程由杨丽与刘志强完成; 数据分析由杨丽完成; 论文撰写由杨丽与郑鹏远完成。
通讯作者: 郑鹏远, 教授, 450003, 河南省郑州市经八路2号, 郑州大学第二附属医院消化科, medp7123@126.com
收稿日期: 2013-05-26 修回日期: 2013-07-22
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Effect of corticotropin-releasing factor on expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells

Li Yang, Peng-Yuan Zheng, Zhi-Qiang Liu

Li Yang, Department of Gastroenterology, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Peng-Yuan Zheng, Zhi-Qiang Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Correspondence to: Peng-Yuan Zheng, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 2 Jingba Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. medp7123@126.com
Received: 2013-05-26 Revised: 2013-07-22
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of corticotropin-releasing factor on the expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells.

METHODS: HT-29 cells pretreated with corticotropin-releasing factor (CRF) at a concentration of 20 ng/mL for 24 h were stimulated with LPS at a concentration of 100 ng/mL for 24 h, and cellular extracts were harvested to measure the expression of ZO-1, ZO-2, Occludin, cln1, cln2, cln3 and cln4 by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Subsequently, groups of HT-29 cells were stimulated with CRF at a concentration of 0, 1, 10 or 20 ng/mL for 24 h, or pretreated with nuclear factor κ B (NF- κ B) inhibitor diethylmaleate (DEM, 1 mmol/L) and

then incubated with CRF at a concentration of 20 ng/mL for 24 h. Each group was then stimulated with LPS at a concentration of 100 ng/mL for 24 h, and the expression of cln2 protein was detected by Western blot.

RESULTS: The expression of ZO-1, ZO-2, Occludin, cln1, cln3 and cln4 was changed slightly (all $P > 0.05$) while the expression of cln2 was markedly increased ($P < 0.05$) in HT-29 cells after exposure to both LPS and CRF. CRF significantly increased the expression of cln2 in HT-29 cells in a dose-dependent manner, while NF- κ B inhibitor DEM could block this effect.

CONCLUSION: CRF significantly increases the expression of cln2 in HT-29 cells in a dose-dependent manner, and NF- κ B activation is involved in CRF-induced cln2 expression. CRF has no effect on the expression of ZO-1, ZO-2, Occludin, cln1, cln3 and cln4 in HT-29 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Corticotropin-releasing factor; Intestinal epithelial cells; Tight junction; Lipopolysaccharide

Yang L, Zheng PY, Liu ZQ. Effect of corticotropin-releasing factor on expression of tight junction proteins in intestinal epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2424-2428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2424.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2424>

摘要

目的: 探讨促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF)对肠上皮细胞紧密连接相关蛋白的调节作用。

方法: 以CRF(20 ng/mL)刺激HT-29细胞24 h后再以脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(100 ng/mL)刺激24 h, 收集细胞, ELISA法检测细胞提取物中胞质附着蛋白(zonula occludins protein, ZO)-1、ZO-2、Occludin、cln1、cln2、cln3和cln4的表达。再次将HT-29细胞以CRF

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

0、1、10、20 ng/mL的浓度刺激24 h和核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)抑制剂马来酸二乙酯(diethylmaleate, DEM)1 mmol/L预孵1 h后加CRF 20 ng/mL刺激24 h, 然后更换各组细胞液后继续再以LPS 100 ng/mL的浓度孵育24 h, 收集各组HT-29细胞, 提取蛋白, 免疫印迹法检测cldn2表达水平。

结果: ELISA检测结果显示以CRF刺激结肠上皮细胞24 h后再以LPS刺激后ZO-1、ZO-2、Occludin、cldn1和cldn3表达水平较单纯LPS刺激有轻度的下降, 但是cldn2的表达则较前明显升高($P<0.01$)。免疫印迹法检测结果显示以LPS孵育前以CRF(1 ng/mL)刺激即可引起cldn2表达增高, 随后加大CRF刺激浓度, 分别以10和20 ng/mL刺激, 则cldn2的表达随着刺激浓度加大而逐渐增高($P<0.05$), 呈现剂量依赖效应, 而以CRF(20 ng/mL)刺激同时加入NF- κ B抑制剂DEM后再以LPS孵育HT-29细胞后, CRF则不能诱导cldn2表达增高($P>0.05$)。

结论: CRF对肠上皮细胞中的cldn2表达刺激呈剂量依赖效应, 并且CRF对肠上皮细胞的这种诱导作用可能与NF- κ B激活有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 促肾上腺皮质激素释放因子; 肠上皮细胞; 紧密连接; 脂多糖

核心提示: 本实验从体外细胞实验证实了应激因子肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin-releasing factor, CRF)可以刺激肠上皮细胞中紧密连接相关蛋白cldn2表达并且发现CRF对肠上皮细胞的这种诱导作用与核因子 κ B(nuclear factor κ B)激活有关, 为体内进一步研究应激因素对肠道炎症的作用奠定了基础。

杨丽, 郑鹏远, 刘志强. 促肾上腺皮质激素释放因子对肠上皮细胞紧密连接相关蛋白的调节. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2424-2428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2424.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2424>

0 引言

胃肠道上皮是机体抵御各种病原体、毒素和来自肠腔内变应原的机械屏障。肠黏膜上皮屏障完整性一旦破坏, 可导致多种肠道疾病如溃疡性结肠炎、克罗恩病、慢性腹泻性疾病及其他肠道炎症性疾病^[1,2]。而肠上皮细胞间的紧密连接(tight junctions, TJs)相关蛋白是构成机械屏

障的决定因素。TJs位于上皮顶端两相邻细胞间, 主要由跨膜蛋白claudins、occludin和胞质附着蛋白(zonula occludens proteins, ZO)组成^[3,4]。已经发现精神紧张等应激因素不仅可以导致功能性肠病如肠易激综合征, 还可诱发或加剧器质性疾病如炎症性肠病的发生^[5,6], 而促肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin-releasing factor, CRF)作为主要的应激因子, 其在肠道炎症发生中的作用如何, 是否与肠上皮屏障的破坏有关? 本研究以肠上皮细胞为研究对象, 观察CRF对肠上皮细胞紧密连接相关蛋白的作用, 探讨其对肠黏膜屏障破坏的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 HT-29细胞株购自中国科学院细胞库; 促肾上腺皮质激素释放因子CRF购自Sigma公司; occludin, cldn1、cldn2、cldn3、cldn4、ZO-1和ZO-2 ELISA试剂盒购自上海邦奕生物公司; cldn2抗体和DEM购自Sigma公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HT-29细胞复苏后, 接种培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素以及100 U/mL链霉素的RPMI 1640培养基中, 置于5%CO₂孵箱中培养, 温度调至37 °C, 每天观察细胞生长情况, 更换细胞培养液, 4-5 d后以0.25%的胰酶消化传代, 取对数生长期的细胞, 以 5×10^5 /mL的密度接种于50 mL培养瓶备用。

1.2.2 细胞刺激: 以CRF(20 ng/mL)的浓度刺激24 h后, 更换细胞液后继续再以脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(100 ng/mL)的浓度孵育24 h, 对照组单纯以LPS(100 ng/mL)孵育刺激24 h, 收集细胞提取液, -20 °C冰箱冻存, 以备ELISA检测。HT-29细胞以含10%胎牛血清的RPMI 1640培养接种于培养板内, 以CRF 0、1、10、20 ng/mL的浓度刺激24 h和核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)抑制剂DEM 1 mmol/L预孵1 h后加CRF 20 ng/mL刺激24 h, 然后更换各组细胞液后继续再以LPS 100 ng/mL的浓度孵育24 h, 收集各组HT-29细胞, PBS洗涤2次, 冻存于-70 °C冰箱, 用于提取蛋白。

1.2.3 ELISA检测: 参照说明书检测细胞培养液中occludin、cldn1、cldn2、cldn3、cldn4、ZO-1和ZO-2因子的表达。

1.2.4 免疫印迹法检测cldn2的表达: 将刺激后的各组HT29细胞, 分别加入细胞蛋白裂解液提取蛋白, Bradford方法测定蛋白浓度, 配置8%十二

■ 研究前沿

促肾上腺皮质激素释放因子是下丘脑-垂体-肾上腺轴产生的主要应激因子, 近年发现不仅中枢组织中存在肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin-releasing factor, CRF), 周围组织中也存在着CRF, 并证实与周围组织中的炎症发生有关。

■ 相关报道

肠黏膜屏障的破坏是炎症性肠病发生的关键, 肠上皮之间的紧密连接相关蛋白的异常表达可导致肠黏膜屏障功能受损, 而应激因素导致肠病的发生是否与紧密连接相关蛋白的异常表达之间的关系尚未报道。

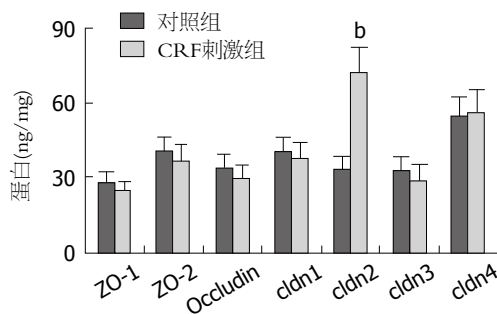


图1 HT-29细胞上清液中紧密连接相关蛋白的表达。^b $P < 0.01$ vs 对照组。CRF: 促肾上腺皮质激素释放因子; ZO: 胞质附着蛋白。

烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶, 将总蛋白加样, 横压电泳, 横流转膜, 加入5%的脱脂奶粉封闭过夜, 加一抗兔抗人cln2多克隆抗体, 孵育2 h, PBS洗涤2次, 加辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG, 孵育2 h, 加ECL显色, 暗室曝光。将所有免疫印迹结果进行图像分析, 用UVIBand成像系统进行扫描分析, 结果以目的条带面积灰度值表示。

统计学处理 实验数据采用SPSS13.0软件进行分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计量资料多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HT-29细胞上清液中紧密连接相关蛋白的表达 ELISA检测结果显示以CRF刺激结肠上皮细胞24 h后再以LPS刺激后ZO-1、ZO-2、Occludin、cln1和cln3表达水平与单纯LPS刺激无明显变化($P > 0.05$), 但是cln2的表达则较前明显升高($P < 0.01$, 图1)。

2.2 不同浓度CRF对HT-29细胞中cln2诱导表达及DEM干预结果 以LPS孵育前以CRF(1 ng/mL)刺激即可引起cln2表达增高, 随后加大CRF刺激浓度, 分别以10和20 ng/mL刺激, 则cln2的表达随着刺激浓度加大而逐渐增高($P < 0.05$), 呈现剂量依赖效应, 而以CRF(20 ng/mL)刺激同时加入NF- κ B抑制剂DEM后再以LPS孵育HT-29细胞然后CRF则不能诱导cln2表达增高($P > 0.05$, 图2)。

3 讨论

CRF是一种41氨基酸肽, 是下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)6产生的主要应激因子^[7-9], 目前研究发现, 不仅脑组织中存在CRF, 周围组织也有CRF和其相关肽的表达, 并且发现周围组织中的一些免疫细胞、神经细胞

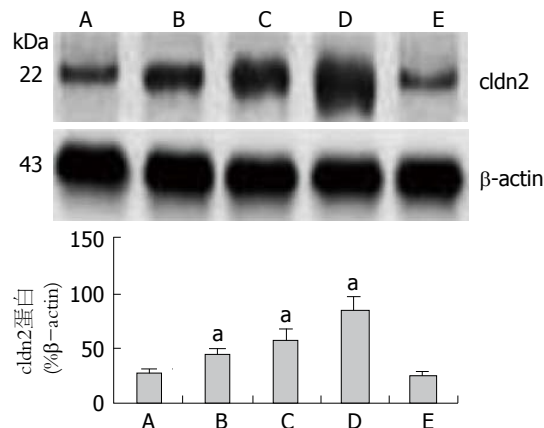


图2 不同浓度CRF对HT-29细胞中cln2诱导表达及DEM干预结果。A组: LPS+CRF(0 ng/mL); B组: LPS+CRF(1 ng/mL); C组: LPS+CRF(10 ng/mL); D组: LPS+CRF(20 ng/mL); E组: LPS+CRF(20 ng/mL)+DEM。^a $P < 0.05$ vs A组。CRF: 促肾上腺皮质激素释放因子; LPS: 脂多糖; DEM: 马来酸二乙酯。

释放的CRF有促炎作用^[10,11], 如类风湿关节炎^[12]、溃疡性结肠炎^[13]、桥本甲状腺炎^[14]和银屑病^[15]中炎症组织中的CRF表达都是增高的。周围型CRF信号传导系统在多种疾病中的致炎作用已越来越引起人们的注意。近年越来越多的报道显示环境因素中应激因素不仅可导致功能性肠病如肠易激综合征还可导致器质性肠病如炎症性肠病的发生, 而CRF是主要的应激因子, 已经发现肠道黏膜组织中广泛存在有CRF及其受体, 并且肠道组织中CRF信号系统活化也与炎症产生有关^[16], 但具体机制尚不甚清, 揭示CRF在肠道炎症中的作用机制有可能进一步阐释应激因素在肠道炎症发生中的作用。

许多肠道炎症性疾病如溃疡性结肠炎、克罗恩病、慢性腹泻性疾病等都与肠黏膜屏障的破坏有关^[17,18]。那么应激导致肠道炎症的发生是否也与肠黏膜屏障的破坏有关, 具体机制又是如何目前鲜有报道。肠上皮是构成肠黏膜的第一道防御屏障, 肠上皮毗邻细胞之间形成紧密连接的屏障需要TJs相关蛋白的作用, TJs位于上皮顶端两相邻细胞间, 主要由跨膜蛋白claudins、occludin和ZO组成。肠道上皮细胞中的TJ蛋白改变可导致毗邻细胞之间浆膜空隙或者细胞旁路空隙不能被紧密连接封闭, 肠上皮细胞的机械屏障作用则破坏, 通透性增高, 导致腔内微生物产物, 大分子抗原以及其他毒性物质可以有机会进入肠道深部组织引起进一步的病理反应^[19-21]。由于原代培养肠上皮细胞非常困难, 体外研究肠上皮细胞多采用生物学活性与其非常相似的结肠腺癌细胞株, 本研究中

我们采用了与正常肠上皮细胞具有相似细胞免疫学特性的人结肠腺癌细胞系HT-29细胞为研究对象。我们的实验发现CRF刺激HT-29细胞株24 h后再以LPS刺激可以引起ZO-1、ZO-2、Occludin、cldn1和cldn3的轻度降低, 但是cldn2则明显升高, 并且随着CRF刺激浓度加大, cldn2表达量亦逐渐增高, 呈现剂量依赖效应, 已有研究证实活动性溃疡性结肠炎或克罗恩病患者肠黏膜炎症组织中cldn2表达也是增高的, 体外实验已经陆续发现克罗恩病患者肠黏膜固有层淋巴细胞释放的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)可通过诱导cldn2升高而导致肠黏膜炎症的发生^[22], 溃疡性结肠炎患者中促炎因子IL-13也是通过诱导cldn2升高而诱发肠黏膜炎症反应^[23], 这些都证实cldn2升高导致了肠上皮细胞间的紧密连接破坏, 进而引起肠黏膜通透性增高, 屏障功能削弱^[21]。而本实验从体外研究发现应激因子CRF可以显著升高cldn2, 提示应激造成肠上皮屏障的破坏可能与cldn2的诱导升高。

本研究还显示单独以LPS刺激并不能诱导肠上皮细胞中cldn2的表达增高, 这与体内肠黏膜屏障对腔内内毒素呈免疫耐受的结果一致, 而以CRF刺激后再以LPS刺激则能诱导cldn2表达增高, 并且CRF与LPS协同刺激cldn2表达增高呈现CRF剂量依赖效应, 这就提示CRF有增强LPS对肠上皮屏障的破坏作用, 但是CRF是通过何种通路诱导cldn2表达? Ma等^[23]研究发现TNF- α 诱导肠上皮紧密相关蛋白表达异常通透性增高与NF- κ B的激活有关, 我们推测CRF对cldn2的诱导表达是否也与NF- κ B活化有关, 为了验证这种假设我们以CRF 20 ng/mL刺激的同时加入NF- κ B抑制剂DEM, 然后再以LPS刺激, 结果显示cldn2表达无明显增高, 这就提示CRF对cldn2的诱导表达与CRF促进结肠上皮对LPS反应增高都与NF- κ B活化有关。

近年来, 越来越多的临床报道环境因素在肠道疾病发生中的作用, 但是具体机制尚不清楚, 而我们的研究从体外实验证实了应激因子CRF可以刺激肠上皮细胞中紧密连接相关蛋白cldn2表达增高, 且呈剂量依赖效应, 并且发现CRF对肠上皮细胞的这种诱导作用与NF- κ B活化有关, 为体内进一步研究应激因素对肠道炎症的作用奠定了基础。

4 参考文献

- 1 Clayburgh DR, Shen L, Turner JR. A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. *Lab Invest* 2004; 84: 282-291 [PMID: 14767487 DOI: 10.1038/labinvest.3700050]
- 2 Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 390-400 [PMID: 18200661 DOI: 10.3748/wjg.14.390]
- 3 González-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 81: 1-44 [PMID: 12475568 DOI: 10.1016/S0079-6107(02)00037-8]
- 4 Rao RK, Basuroy S, Rao VU, Karnaky Jr KJ, Gupta A. Tyrosine phosphorylation and dissociation of occludin-ZO-1 and E-cadherin-beta-catenin complexes from the cytoskeleton by oxidative stress. *Biochem J* 2002; 368: 471-481 [PMID: 12169098 DOI: 10.1042/BJ20011804]
- 5 Maunder RG, Levenstein S. The role of stress in the development and clinical course of inflammatory bowel disease: epidemiological evidence. *Curr Mol Med* 2008; 8: 247-252 [PMID: 18537632 DOI: 10.2174/156652408784533832]
- 6 Santos J, Alonso C, Vicario M, Ramos L, Lobo B, Malagelada JR. Neuropharmacology of stress-induced mucosal inflammation: implications for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Curr Mol Med* 2008; 8: 258-273 [PMID: 18537634 DOI: 10.2174/156652408784533788]
- 7 Perrin MH, Vale WW. Corticotropin releasing factor receptors and their ligand family. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 885: 312-328 [PMID: 10816663 DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb08687.x]
- 8 Lightman SL. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol* 2008; 20: 880-884 [PMID: 18601712 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2008.01711.x]
- 9 Hsu SY, Hsueh AJ. Human stresscopin and stresscopin-related peptide are selective ligands for the type 2 corticotropin-releasing hormone receptor. *Nat Med* 2001; 7: 605-611 [PMID: 11329063 DOI: 10.1038/87936]
- 10 Chang CL, Hsu SY. Ancient evolution of stress-regulating peptides in vertebrates. *Peptides* 2004; 25: 1681-1688 [PMID: 15476935 DOI: 10.1016/j.peptides.2004.05.022]
- 11 Black PH. Stress and the inflammatory response: a review of neurogenic inflammation. *Brain Behav Immun* 2002; 16: 622-653 [PMID: 12480495 DOI: 10.1016/S0889-1591(02)00021-1]
- 12 McEvoy AN, Bresnihan B, FitzGerald O, Murphy EP. Corticotropin-releasing hormone signaling in synovial tissue from patients with early inflammatory arthritis is mediated by the type 1 alpha corticotropin-releasing hormone receptor. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1761-1767 [PMID: 11508426 DOI: 10.1002/1529-0131(200108)44:8<1761::AID-ART311>3.0.CO;2-D]
- 13 Saruta M, Takahashi K, Suzuki T, Torii A, Kawakami M, Sasano H. Urocortin 1 in colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5352-5361 [PMID: 15531481 DOI: 10.1210/jc.2004-0195]
- 14 Scopa CD, Mastorakos G, Friedman TC, Melachrinou M, Merino MJ, Chrousos GP. Presence of immunoreactive corticotropin releasing hormone in thyroid lesions. *Am J Pathol* 1994; 145: 1159-1167 [PMID: 7977646]

■创新盘点

炎症性肠病的发病机制尚不甚清, 既往的研究多集中在免疫、遗传因素, 近年发现应激亦可诱导或加剧炎症性肠病的发生, 但是具体机制尚不清楚。

■同行评价

本文为探讨应激因素对肠道炎症反应提供了新的理论依据,具有一定指导意义。

- 15 Cemil BC, Canpolat F, Yilmazer D, Eskioğlu F, Alper M. The association of PASI scores with CRH-R1 expression in patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2012; 304: 127-132 [PMID: 22350180 DOI: 10.1007/s00403-012-1218-4]
- 16 Paschos KA, Kolios G, Chatzaki E. The corticotropin-releasing factor system in inflammatory bowel disease: prospects for new therapeutic approaches. *Drug Discov Today* 2009; 14: 713-720 [PMID: 19379831 DOI: 10.1016/j.drudis.2009.04.002]
- 17 Mawdsley JE, Rampton DS. Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut* 2005; 54: 1481-1491 [PMID: 16162953 DOI: 10.1136/gut.2005.064261]
- 18 Salim SY, Söderholm JD. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 362-381 [PMID: 20725949 DOI: 10.1002/ibd.21403]
- 19 Turner JR. Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol* 2006; 169: 1901-1909 [PMID: 17148655]
- 20 Shen L, Su L, Turner JR. Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects. *Dig Dis* 2009; 27: 443-449 [PMID: 19897958 DOI: 10.1159/000233282]
- 21 Amasheh M, Grotjohann I, Amasheh S, Fromm A, Söderholm JD, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD. Regulation of mucosal structure and barrier function in rat colon exposed to tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in vitro: a novel model for studying the pathomechanisms of inflammatory bowel disease cytokines. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1226-1235 [PMID: 19658020 DOI: 10.1080/00365520903131973]
- 22 MacDonald TT, Hutchings P, Choy MY, Murch S, Cooke A. Tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma production measured at the single cell level in normal and inflamed human intestine. *Clin Exp Immunol* 1990; 81: 301-305 [PMID: 2117510]
- 23 Ma TY, Iwamoto GK, Hoa NT, Akotia V, Pedram A, Boivin MA, Said HM. TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G367-G376 [PMID: 14766535]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

姜黄素联合奥沙利铂对肠癌RKO细胞增殖的抑制和凋亡的诱导

张璐璐, 谭欣, 孙 琥, 何灏瀚

张璐璐, 谭欣, 孙琥, 何灏瀚, 沈阳医学院附属中心医院 辽宁省沈阳市 110024
张璐璐, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的诊断与治疗。
沈阳市卫生局科技基金资助项目, No. 2011048
作者贡献分布: 此课题由张璐璐设计; 研究过程由张璐璐、谭欣及孙琥完成; 研究所用试剂与分析工具由何灏瀚提供; 数据分析由张璐璐与谭欣完成; 本论文写作由张璐璐完成。
通讯作者: 张璐璐, 副主任医师, 110024, 辽宁省沈阳市铁西区南七西路6号, 沈阳医学院附属中心医院. zhanglulu1977@hotmail.com
收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-05
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-28

Curcumin combined with oxaliplatin inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colorectal cancer cell line RKO

Lu-Lu Zhang, Xin Tan, Xiao Sun, Hao-Lan He

Lu-Lu Zhang, Xin Tan, Xiao Sun, Hao-Lan He, the Affiliated Center of Hospital, Shenyang Medical College, Shenyang 110024, Liaoning Province, China
Supported by: the Science and Technology Fund of Health Bureau of Shenyang City, No. 2011048
Correspondence to: Lu-Lu Zhang, Associate Chief Physician, the Affiliated Center of Hospital, Shenyang Medical College, 5 Nanqi West Road, Tiexi District, Shenyang 110024, Liaoning Province, China. zhanglulu1977@hotmail.com
Received: 2013-06-06 Revised: 2013-07-05
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore whether curcumin and oxaliplatin have a synergistic effect on cell proliferation and apoptosis in human colorectal cancer cell line RKO.

METHODS: RKO cells were treated with curcumin and/or oxaliplatin. Cell proliferation was assessed by MTT assay. Cell apoptosis was determined using flow cytometry. Expression of apoptosis-related proteins was detected by Western blot.

RESULTS: The IC_{50} of curcumin in RKO cells at 24, 48 and 72 h after treatment were $64.14 \mu\text{mol/L} \pm 3.97 \mu\text{mol/L}$, $34.02 \mu\text{mol/L} \pm 2.47 \mu\text{mol/L}$

and $18.66 \mu\text{mol/L} \pm 0.29 \mu\text{mol/L}$, respectively. The IC_{50} of oxaliplatin at 24, 48 and 72 h were $36.97 \mu\text{g/mL} \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$, $20.34 \mu\text{g/mL} \pm 2.29 \mu\text{g/mL}$ and $9.92 \mu\text{g/mL} \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$, respectively. Curcumin ($20 \mu\text{mol/L}$) and oxaliplatin ($10 \mu\text{g/mL}$) synergistically inhibited cell proliferation and induced cell apoptosis. The expression of cleaved PARP, caspase 3, and caspase 8 was up-regulated after the combination treatment.

CONCLUSION: Curcumin combined with oxaliplatin inhibits cell proliferation and promotes cell apoptosis by regulating apoptosis-related protein expression in human colorectal cancer cell line RKO.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Oxaliplatin; Apoptosis; Colorectal cancer

Zhang LL, Tan X, Sun X, He HL. Curcumin combined with oxaliplatin inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human colorectal cancer cell line RKO. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2429-2433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2429>

摘要

目的: 观察联合姜黄素和奥沙利铂对诱导人肠癌RKO细胞凋亡以及对凋亡相关蛋白表达的影响。

方法: 姜黄素和奥沙利铂单独及联合作用于RKO细胞, MTT法检测细胞增殖抑制率, 流式细胞术检测细胞凋亡, 免疫印记检测凋亡相关蛋白的表达。

结果: MTT结果表明单药姜黄素作用RKO细胞24、48和72 h的 IC_{50} 值分别为 $64.14 \mu\text{mol/L} \pm 3.97 \mu\text{mol/L}$ 、 $34.02 \mu\text{mol/L} \pm 2.47 \mu\text{mol/L}$ 和 $18.66 \mu\text{mol/L} \pm 0.29 \mu\text{mol/L}$ 。单药奥沙利铂作用24、48和72 h的 IC_{50} 值为 $36.97 \mu\text{g/mL} \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$ 、 $20.34 \mu\text{g/mL} \pm 2.29 \mu\text{g/mL}$ 和 $9.92 \mu\text{g/mL} \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$ 。选用低浓度的药物

■背景资料

奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶/四氢叶酸作为晚期结直肠癌的一线治疗方案, 对不同分化程度的肠癌均有较好的治疗效果, 但长期使用容易产生耐药性。以往研究初步证实姜黄素可抑制肿瘤细胞增殖, 诱导细胞发生凋亡。

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■研发前沿

姜黄素具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤及清除自由基等多方面的药理作用,其抗肿瘤作用日益引起人们的重视。本研究观察了姜黄素联合奥沙利铂对人肠癌细胞的作用,旨在为肠癌的临床治疗提供相关的理论依据。

(20 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素和10 $\mu\text{g/mL}$ 的奥沙利铂)联合处理RKO细胞24 h,结果显示与相应浓度姜黄素、奥沙利铂单药组相比,两药联合组对RKO的增殖抑制率显著增强,细胞凋亡率显著提高($P<0.05$)。进一步研究发现姜黄素和奥沙利铂联合后,诱导了PARP、caspase3和caspase8活化裂解。

结论:姜黄素和奥沙利铂联合用药后,可能通过诱导PARP、caspase3和caspase8裂解,进而抑制肠癌RKO细胞增殖和诱导细胞凋亡。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:姜黄素;奥沙利铂;凋亡;肠癌

核心提示:低剂量姜黄素和奥沙利铂联合,可协同抑制肠癌细胞增殖,同时通过诱导caspase3、caspase8及PARP裂解,诱导肠癌细胞凋亡。

张璐璐, 谭欣, 孙斌, 何灏瀚. 姜黄素联合奥沙利铂对肠癌RKO细胞增殖的抑制和凋亡的诱导. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2429-2433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2429>

0 引言

大肠癌是我国常见的消化系恶性肿瘤之一,其发病率仅次于胃癌和食管癌,且呈逐年上升趋势^[1]。对于中晚期肠癌以化疗为基础的内科治疗成为首选治疗,尽管新型化疗药物的应用使晚期肠癌患者的生存期有所提高,但中位总生存时间仍然不超过24 mo^[2]。奥沙利铂是继顺铂、卡铂之后第3代铂类金属抗肿瘤药物,他通过产生烷化物,作用于DNA并以此为靶点,与DNA链上的G共价键相结合,形成链内、链间交链及DNA蛋白质交联,造成DNA损伤,从而抑制DNA的合成和复制,使细胞发生死亡^[3,4]。有报道奥沙利铂可通过诱导细胞凋亡杀伤肿瘤细胞,但因其药物不良反应、耐药性等问题大大限制了临床应用^[5,6]。

姜黄素是从植物姜黄中提取出来的一种酚类色素,属于天然酚类抗氧化剂,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤及清除自由基等多方面的药理作用,其抗肿瘤作用日益引起人们的重视。实验研究表明,姜黄素可诱导肝癌、食管癌等多种肿瘤细胞凋亡^[7,8]。本研究观察了姜黄素联合奥沙利铂对人肠癌RKO细胞的作用以及对凋亡相关蛋白表达的影响,旨在为肠癌的临床治疗提供相关的理论依据。

■相关报道

赵东利等发现姜黄素对小鼠移植瘤具有显著增殖抑制作用。李刚等证实姜黄素对肾癌生长具有显著抑制作用,还发现其具有放射增敏作用。陈小芬等发现姜黄素显著抑制SKOV-3细胞增殖。

1 材料和方法

1.1 材料 姜黄素购自华美生科生物技术有限公司;奥沙利铂为Sanofi-Aventis公司产品;RPML1640培养基购自美国GIBCO公司;小牛血清购自上海实生细胞生物技术有限公司;四甲基偶氮唑盐、二甲基亚砷购自美国Sigma公司;鼠抗人聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly(ADP-ribose)polymerase, PARP]、兔抗人caspase3和caspase8以及兔抗人 β -actin抗体购自Santa Cruz公司;辣根过氧化物酶标记的二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;ECL试剂盒购自PIERCE公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:人肠癌细胞系RKO为沈阳医学院中心实验室保存。上述细胞在含10%胎牛血清、12 kU/L庆大霉素的RPMI 1640培养液中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度及5%CO₂的孵育箱内传代培养。每周换液2-3次,胰酶消化后传代。

1.2.2 细胞活力检测:取对数生长期的肠癌RKO细胞株,接种于96孔板内,待细胞贴壁后加入各实验组药物。每种浓度设4个复孔,并设空白组(不接种细胞)、对照组(只含等量溶剂)。之后每孔加入MTT溶液(5 mg/mL)25 μL ,继续孵育4 h,小心吸弃孔内上清液。加入二甲亚砷200 μL /孔,振荡至结晶物充分溶解,在酶联免疫测定仪上选择570 nm波长,空白孔调零,测定各孔光吸收值,计算各浓度组的增殖抑制率。

1.2.3 细胞凋亡检测:将肠癌RKO细胞接种于6孔板内,分别用药物处理24 h后,收集对照组、姜黄素和/或奥沙利铂处理组细胞。常规消化离心,冷PBS洗2次,加1 mL 700 mL/L乙醇(预冷)固定,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜保存。次日弃上清,将细胞悬于0.5 mL冷PBS中,加10 mg/mL的RNase 10 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min,加0.5 mg/mL的PI染剂10 μL ,避光30 min,流式细胞仪检测。CELLQUEST软件分析结果。

1.2.4 蛋白表达检测:分别收集姜黄素和/或奥沙利铂处理的RKO细胞,冰上裂解后离心,提取上清蛋白,紫外分光光度计法进行蛋白定量。10%SDS-PAGE凝胶电泳分离,通过电转移法将蛋白质转移到硝酸纤维素膜后,在含5%脱脂奶粉的TBST中室温封闭2 h。加入一抗孵育过夜,TBST漂洗4次后,加入辣根过氧化物酶标记二抗,室温作用30 min, ECL法显色, GIS凝胶图像分析系统照相并分析处理。

统计学处理 所有实验重复3次,以mean \pm

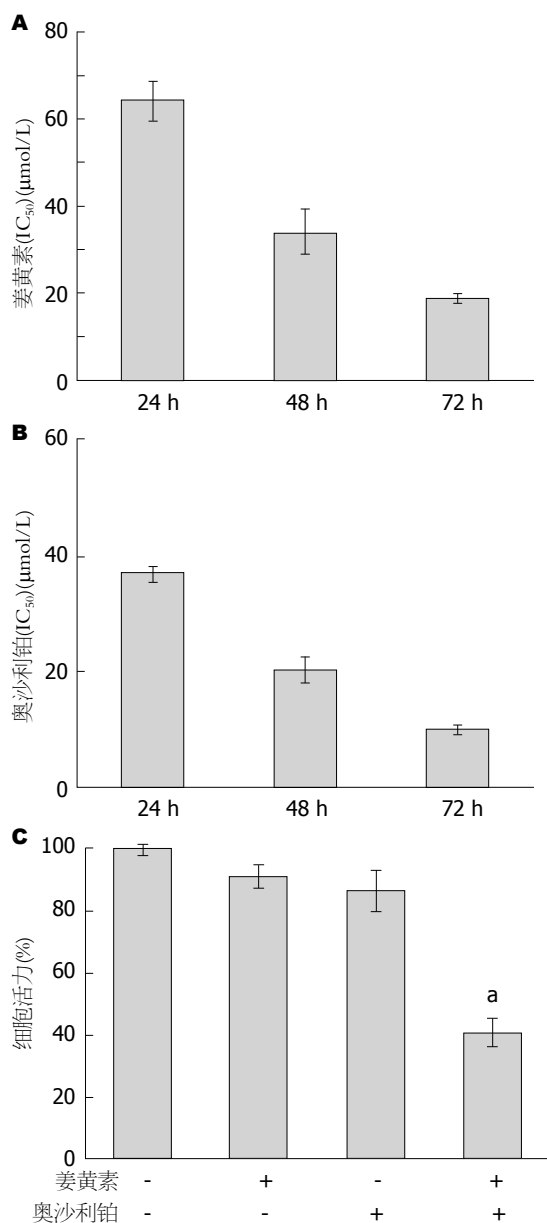


图1 姜黄素和奥沙利铂抑制人肠癌RKO细胞的增殖. A: 姜黄素作用RKO细胞24、48和72 h的IC₅₀值; B: 奥沙利铂作用RKO细胞24、48和72 h的IC₅₀值; C: 姜黄素(20 μmol/L)和奥沙利铂(10 μg/mL)单独及联合处理RKO细胞24 h, 对RKO细胞的增殖抑制作用. 联合处理组与单药组相比, ^a*P*<0.05.

SD表示, 组间比较采用*t*检验, *P*<0.05差异有统计学意义.

2 结果

2.1 姜黄素和奥沙利铂对肠癌RKO细胞增殖的影响 分别将姜黄素(0、10、20、40、60、80 μmol/L)作用RKO细胞, MTT结果表明24、48和72 h的IC₅₀值分别为64.14 μmol/L±3.97 μmol/L、34.02 μmol/L±2.47 μmol/L和18.66 μmol/L±0.29 μmol/L(图1A). 奥沙利铂(0.1、1、10、100 μg/mL)作用于RKO细胞, 24、48和72 h的

IC₅₀值为36.97 μg/mL±1.26 μg/mL、20.34 μg/mL±2.29 μg/mL和9.92 μg/mL±0.92 μg/mL(图1B). 为了观察两药的协同效应, 我们选用低浓度药物(20 μmol/L的姜黄素和10 μg/mL的奥沙利铂)单独及联合处理RKO细胞24 h. 结果显示, 与相应浓度姜黄素、奥沙利铂单药组相比, 联合组对RKO的增殖抑制率显著增强(*P*<0.05)(图1C). 我们的结果表明, 姜黄素和奥沙利铂联合应用能够有效抑制人肠癌RKO细胞增殖.

2.2 姜黄素和奥沙利铂对RKO细胞凋亡的影响 流式分析发现, RKO细胞经低毒剂量的姜黄素(20 μmol/L)作用24 h后, 细胞凋亡率为2.79%, 而单药奥沙利铂(10 μg/mL)作用细胞24 h, 细胞凋亡率为4.01%, 与对照组相比均无统计差异. 姜黄素(20 μmol/L)联合奥沙利铂(10 μg/mL)作用细胞24 h, 细胞凋亡率增加至36.79%(*P*<0.05)(图2). 上述结果提示, 姜黄素和奥沙利铂协同诱导肠癌RKO细胞凋亡.

2.3 姜黄素和奥沙利铂对RKO细胞凋亡相关蛋白表达的影响 Western blot结果显示, 单药姜黄素(20 μmol/L)及单药奥沙利铂(10 μg/mL)分别作用RKO细胞24 h, 对凋亡相关蛋白PARP、caspase3和caspase8蛋白的表达无显著影响. 而姜黄素与奥沙利铂联合用药组, 诱导了PARP、caspase3和caspase8裂解(图3).

3 讨论

大肠癌是当今世界范围内发病和死亡最常见的恶性肿瘤之一. 在我国的城市及农村均高居死亡原因前列. 随着生活方式的变化、期望寿命的延长、环境污染的加重, 其发病率仍在逐年上升. 目前研究认为大肠癌的发生、发展是一个多因素、多步骤、多基因参与的复杂病理过程, 在此过程中, 涉及癌基因的突变和活化、抑癌基因的丢失或表达失调以及凋亡调节机制紊乱等遗传学改变. 临床研究表明, 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶/四氢叶酸可作为晚期结直肠癌的一线治疗方案, 对不同分化程度的肠癌均有较好的治疗效果^[9,10]. 但大部分化疗药物在大剂量使用时不良反应较大, 并且长期使用容易产生耐药性.

近年来从天然植物中提取抗肿瘤药物已日益引起人们的重视. 姜黄素属于天然酚类抗氧化剂, 以往有学者在多种肿瘤中的研究初步证实: 姜黄素可抑制肿瘤细胞增殖, 诱导细胞发生凋亡. 赵东利等^[11]研究发现姜黄素对小鼠移植瘤

■ 创新盘点

本研究观察了姜黄素联合奥沙利铂对人肠癌RKO细胞的作用以及对凋亡相关蛋白表达的影响, 旨在为肠癌的临床治疗提供相关的理论依据.

■应用要点

联合低剂量的姜黄素和奥沙利铂,可协同抑制肠癌细胞增殖,同时通过诱导caspase3、caspase8及PARP裂解,进而增加肠癌细胞凋亡,为今后大肠癌的临床治疗提供了理论依据。

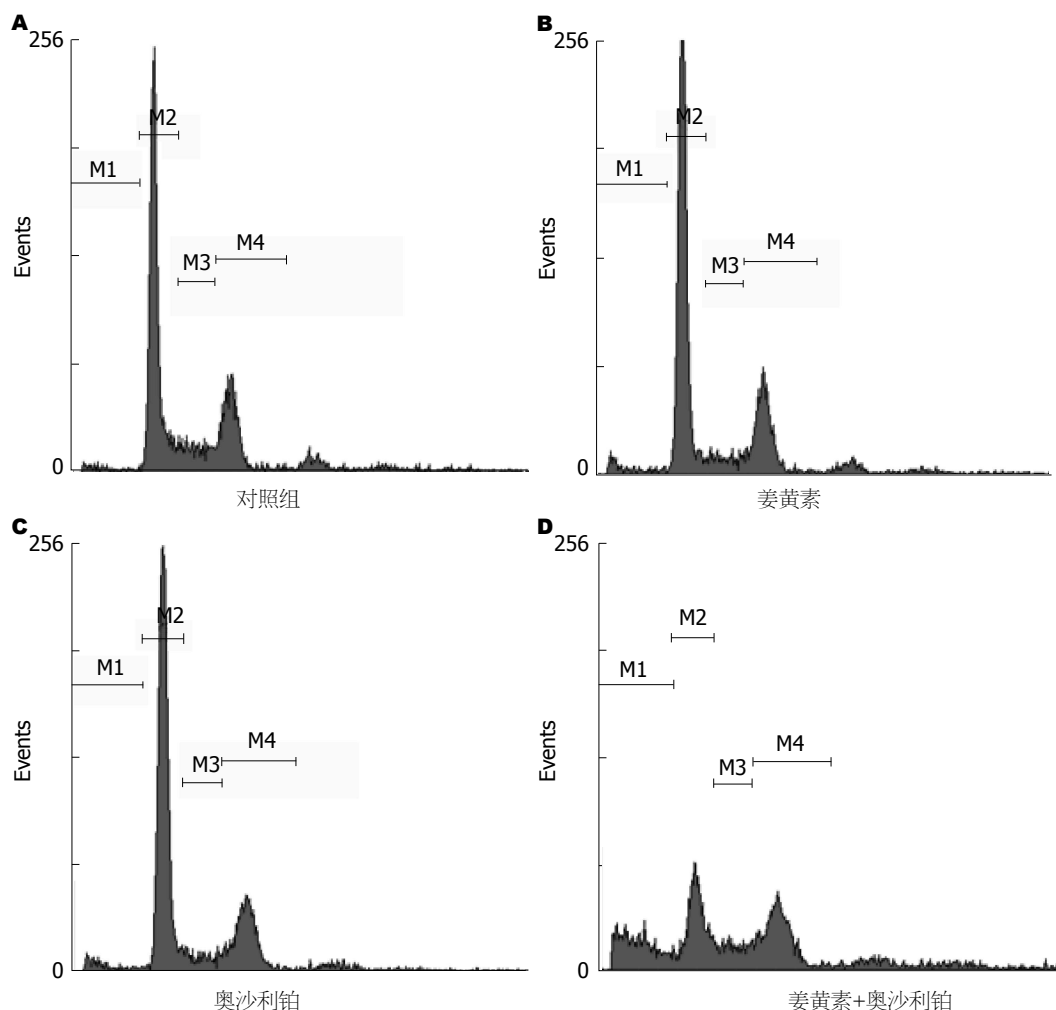


图2 流式细胞术检测姜黄素和奥沙利铂协同诱导RKO细胞凋亡的作用. A: 对照组RKO细胞; B: 单药姜黄素(20 $\mu\text{mol/L}$)作用RKO细胞24 h; C: 单药奥沙利铂(10 $\mu\text{g/mL}$)作用RKO细胞24 h; D: 联合姜黄素(20 $\mu\text{mol/L}$)和奥沙利铂(10 $\mu\text{g/mL}$)作用RKO细胞24 h.

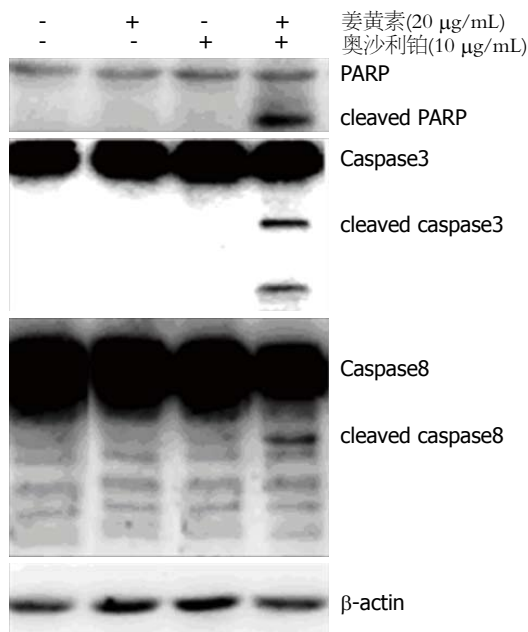


图3 RKO细胞中, 姜黄素和奥沙利铂对凋亡相关蛋白PARP、caspase3和caspase8蛋白的影响. PARP: 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶。

S180细胞具有显著增殖抑制作用. 李刚等^[12]研究证实姜黄素对肾癌ACHN细胞生长具有显著抑制作用, 此外还发现姜黄素具有放射增敏作用. 陈小芬等^[13]研究发现姜黄素呈剂量-时间依赖性方式抑制SKOV-3细胞增殖. 为了减少药物的不良反应, 并能够有效的杀伤肿瘤细胞, 我们选用低浓度的姜黄素及奥沙利铂联合作用于肠癌RKO细胞, 结果显示20 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素和10 $\mu\text{g/mL}$ 的奥沙利铂联合应用时, 具有协同抑制肠癌RKO细胞增殖的作用. 进一步深入探讨其分子机制, 结果表明经低毒剂量的姜黄素(20 $\mu\text{mol/L}$)和奥沙利铂(10 $\mu\text{g/mL}$)单独作用RKO细胞24 h后, 细胞凋亡率分别为2.79%和4.01%, 与对照组相比无统计差异; 联合上述浓度的姜黄素和奥沙利铂作用RKO细胞24 h后, 凋亡细胞显著增加, 细胞凋亡率增至36.79%, 差异有统计学意义. 研究结果提示, 姜黄素和奥沙利铂联合用药能够协同抑制RKO细胞增殖, 同时诱导细胞凋亡.

细胞凋亡是一个受基因调控的多种信号传递系统参与的主动过程, 在细胞凋亡途径中, 首先激活的是启动型caspase, 如caspase8、caspase9, 而后通过级联放大过程激活执行型caspase, 如caspase3、caspase7等, 最终特异性地裂解其底物即PARP, 使细胞发生生化及形态学改变, 导致细胞凋亡^[14-16]。本研究采用Western blot检测发现, 低剂量的姜黄素和奥沙利铂联合应用时, caspase3、caspase8及PARP出现了明显的裂解带, 而姜黄素和奥沙利铂单药组则未见明显裂解带, 结果提示低剂量的姜黄素和奥沙利铂联合用药后, 通过诱导caspase3、caspase8及PARP裂解, 进而抑制肠癌RKO细胞增殖和诱导细胞凋亡。

总之, 本研究证实联合低剂量的姜黄素和奥沙利铂, 可协同抑制肠癌细胞增殖, 同时通过诱导caspase3、caspase8及PARP裂解, 进而增加肠癌细胞凋亡, 为今后大肠癌的临床治疗提供了理论依据。

4 参考文献

- 1 Li Y, Yang H, Cao J. Association between alcohol consumption and cancers in the Chinese population--a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6: e18776 [PMID: 21526212 DOI: 10.1371/journal.pone.0018776]
- 2 Chen J, Ye Y, Sun H, Shi G. Association between KRAS codon 13 mutations and clinical response to anti-EGFR treatment in patients with metastatic colorectal cancer: results from a meta-analysis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71: 265-272 [PMID: 23090619 DOI: 10.1007/s00280-012-2005-9]
- 3 Alian OM, Azmi AS, Mohammad RM. Network insights on oxaliplatin anti-cancer mechanisms. *Clin Transl Med* 2012; 1: 26 [PMID: 23369220 DOI: 10.1186/2001-1326-1-26]
- 4 Chaney SG, Campbell SL, Bassett E, Wu Y. Recognition and processing of cisplatin- and oxaliplatin-DNA adducts. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 53: 3-11 [PMID: 15607931 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2004.08.008]
- 5 Yu YJ, Li YM, Hou XD, Guo C, Cao N, Jiao ZY. Effect of tissue factor on invasion inhibition and apoptosis inducing effect of oxaliplatin in human gastric cancer cell. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 1845-1849 [PMID: 22901134 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.5.1845]
- 6 Jani TS, DeVecchio J, Mazumdar T, Agyeman A, Houghton JA. Inhibition of NF-kappaB signaling by quinacrine is cytotoxic to human colon carcinoma cell lines and is synergistic in combination with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) or oxaliplatin. *J Biol Chem* 2010; 285: 19162-19172 [PMID: 20424169 DOI: 10.1074/jbc.M109.091645]
- 7 Shiu TY, Huang SM, Shih YL, Chu HC, Chang WK, Hsieh TY. Hepatitis C virus core protein down-regulates p21(Waf1/Cip1) and inhibits curcumin-induced apoptosis through microRNA-345 targeting in human hepatoma cells. *PLoS One* 2013; 8: e61089 [PMID: 23577194 DOI: 10.1371/journal.pone.0061089]
- 8 Subramaniam D, Ponnurangam S, Ramamoorthy P, Standing D, Battafarano RJ, Anant S, Sharma P. Curcumin induces cell death in esophageal cancer cells through modulating Notch signaling. *PLoS One* 2012; 7: e30590 [PMID: 22363450 DOI: 10.1371/journal.pone.0030590]
- 9 Failli A, Legitimo A, Orsini G, Castagna M, Spisni R, Miccoli P, Consolini R. Antiproliferative effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cell lines: comparison of three different cytotoxicity assays. *J Biol Regul Homeost Agents* 2013; 27: 275-284 [PMID: 23489708]
- 10 Gavin PG, Colangelo LH, Fumagalli D, Tanaka N, Remillard MY, Yothers G, Kim C, Taniyama Y, Kim SI, Choi HJ, Blackmon NL, Lipchik C, Petrelli NJ, O'Connell MJ, Wolmark N, Paik S, Pogue-Geile KL. Mutation profiling and microsatellite instability in stage II and III colon cancer: an assessment of their prognostic and oxaliplatin predictive value. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 6531-6541 [PMID: 23045248 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0605]
- 11 赵东利, 谢小卫, 李明众, 王书文. 姜黄素对S180小鼠体内抗肿瘤作用的实验研究. *西安交通大学学报(医学版)* 2007; 28: 70-73, 82
- 12 李刚, 王子明, 种铁. 姜黄素对人肾癌ACHN细胞放射的增敏作用及其机制. *西安交通大学学报(医学版)* 2011; 32: 299-302
- 13 陈小芬, 汤为学, 李龙江. 姜黄素对人卵巢癌细胞株SKOV-3的抗增殖作用. *重庆医科大学学报* 2005; 30: 256-259
- 14 Muñoz-Pinedo C. Signaling pathways that regulate life and cell death: evolution of apoptosis in the context of self-defense. *Adv Exp Med Biol* 2012; 738: 124-143 [PMID: 22399377 DOI: 10.1007/978-1-4614-1680-7_8]
- 15 Wen X, Lin ZQ, Liu B, Wei YQ. Caspase-mediated programmed cell death pathways as potential therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif* 2012; 45: 217-224 [PMID: 22429822 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2012.00814.x]
- 16 Andrabi SA, Dawson TM, Dawson VL. Mitochondrial and nuclear cross talk in cell death: parthanatos. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 233-241 [PMID: 19076445 DOI: 10.1196/annals.1427.014]

同行评价

本文的科学性、创新性和可读性能够较好地反映我国胃肠病学临床基础研究水平。

编辑 田滢 电编 闫晋利



术前肠内营养对食道狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响

路秦龙, 郑 锴, 张 鹏

■背景资料

进行性吞咽困难是中晚期食管癌特征性症状, 约80%-90%的食管癌患者出现吞咽困难, 吞咽困难致进食减少, 加之肿瘤消耗, 术前多伴有营养不良, 而术后营养不良与肺感染、吻合口瘘等并发症发生相关, 故术前进行有效地营养评估, 早期加强营养支持, 可能有利于患者围手术期的康复。

路秦龙, 郑 锴, 张 鹏, 天津医科大学总医院心胸外科 天津市 300070

路秦龙, 主要从事食管癌的外科治疗与营养支持的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由路秦龙、郑锴及张鹏设计; 研究过程由路秦龙、郑锴及张鹏操作完成; 研究所用试剂及分析工具由郑锴提供; 本论文写作和数据分析由路秦龙完成。

通讯作者: 郑锴, 300070, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院心胸外科. luqinlong.good@163.com

收稿日期: 2013-06-01 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Effect of preoperative enteral nutrition on postoperative infections and nutritional indices in esophageal cancer patients with esophageal stenosis

Qin-Long Lu, Kai Zheng, Peng Zhang

Qin-Long Lu, Kai Zheng, Peng Zhang, Department of Cardiothoracic Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300070, China

Correspondence to: Kai Zheng, Department of Cardiothoracic Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300070, China. luqinlong.good@163.com

Received: 2013-06-01 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of preoperative enteral nutrition on postoperative infections and nutritional indices in esophageal cancer patients with esophageal stenosis.

METHODS: Fifty-eight esophageal cancer patients with esophageal stenosis were randomly divided into either an experimental group ($n = 29$) or a control group ($n = 29$). The experimental group received enteral nutrition (Nutrison Fibre) on the 14th preoperative day, and the control group received isocaloric amount of daily diet and parenteral nutrition. The incidences of postoperative pulmonary infection, wound infection and anastomotic leakage were observed. Albumin, hemoglobin, transferrin and lymphocyte count were recorded on the 14th, 1st preopera-

tive days and 7th postoperative day.

RESULTS: In total, 24 cases in the experimental group and 24 cases in the control group were evaluable. The incidences of lung infection and wound infection were lower in the experimental group than in the control group, but the differences were not significant (4.17% vs 16.67%, 8.33% vs 20.83%, both $P > 0.05$). The incidence of anastomotic leakage was significantly lower in the experimental group than in the control group (0% vs 16.67%, $P < 0.05$). On the 1st preoperative day, hemoglobin, transferrin and lymphocyte count in the experimental group were higher than those in the control group, but the differences were not significant ($123.36 \text{ g/L} \pm 6.41 \text{ g/L}$ vs $120.49 \text{ g/L} \pm 7.17 \text{ g/L}$, $2.34 \text{ g/L} \pm 0.40 \text{ g/L}$ vs $2.12 \text{ g/L} \pm 0.44 \text{ g/L}$, $2.24 \times 10^9/\text{L} \pm 0.50 \times 10^9/\text{L}$ vs $2.05 \times 10^9/\text{L} \pm 0.47 \times 10^9/\text{L}$, all $P > 0.05$). In contrast, serum albumin was significantly higher in the control group ($37.69 \text{ g/L} \pm 2.43 \text{ g/L}$ vs $36.21 \text{ g/L} \pm 1.87 \text{ g/L}$, $P < 0.05$). On the 7th postoperative day, serum albumin, hemoglobin, transferrin and lymphocyte count in the experimental group were significantly higher than those in the control group ($36.77 \text{ g/L} \pm 2.07 \text{ g/L}$ vs $34.51 \text{ g/L} \pm 1.49 \text{ g/L}$, $118.34 \text{ g/L} \pm 6.19 \text{ g/L}$ vs $113.93 \text{ g/L} \pm 6.85 \text{ g/L}$, $2.01 \text{ g/L} \pm 0.37 \text{ g/L}$ vs $1.77 \text{ g/L} \pm 0.34 \text{ g/L}$, $2.80 \times 10^9/\text{L} \pm 0.51 \times 10^9/\text{L}$ vs $2.36 \times 10^9/\text{L} \pm 0.49 \times 10^9/\text{L}$, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Preoperative enteral nutrition can effectively improve preoperative and postoperative nutritional status and reduce the incidence of postoperative pulmonary infection, wound infection, and anastomotic leakage in esophageal cancer patients with esophageal stenosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Enteral nutrition; Anastomotic leakage; Esophageal stenosis

Lu QL, Zheng K, Zhang P. Effect of preoperative enteral nutrition on postoperative infections and nutritional indices in esophageal cancer patients with

■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

esophageal stenosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(24): 2434-2439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2434>

摘要

目的: 探讨术前肠内营养支持对食道狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响。

方法: 58例食道狭窄食管癌患者随机分为两组, 试验组($n = 29$)术前第14天开始予以肠内营养制剂能全力, 对照组($n = 29$)予以等热量日常饮食及肠外营养支持; 统计术后肺感染、切口感染及吻合口瘘发生率; 于术前第14天、术前第1天及术后第7天, 进行血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白含量测定及淋巴细胞计数。

结果: 试验组出组5例, 对照组出组5例。试验组($n = 24$)术后肺感染、切口感染发生率低于对照组($n = 24$)(4.17% vs 16.67%, 8.33% vs 20.83%, 均 $P > 0.05$)。吻合口瘘发生率显著低于对照组(0% vs 16.67%, $P < 0.05$)。试验组术前第1天血红蛋白、转铁蛋白、淋巴细胞计数均高于对照组($123.36 \text{ g/L} \pm 6.41 \text{ g/L}$ vs $120.49 \text{ g/L} \pm 7.17 \text{ g/L}$, $2.34 \text{ g/L} \pm 0.40 \text{ g/L}$ vs $2.12 \text{ g/L} \pm 0.44 \text{ g/L}$, $2.24 \times 10^9/\text{L} \pm 0.50 \times 10^9/\text{L}$ vs $2.05 \times 10^9/\text{L} \pm 0.47 \times 10^9/\text{L}$, 均 $P > 0.05$)。血清白蛋白显著高于对照组($37.69 \text{ g/L} \pm 2.43 \text{ g/L}$ vs $36.21 \text{ g/L} \pm 1.87 \text{ g/L}$, $P < 0.05$)。试验组术后第7天血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白、淋巴细胞计数均显著高于对照组($36.77 \text{ g/L} \pm 2.07 \text{ g/L}$ vs $34.51 \text{ g/L} \pm 1.49 \text{ g/L}$, $118.34 \text{ g/L} \pm 6.19 \text{ g/L}$ vs $113.93 \text{ g/L} \pm 6.85 \text{ g/L}$, $2.01 \text{ g/L} \pm 0.37 \text{ g/L}$ vs $1.77 \text{ g/L} \pm 0.34 \text{ g/L}$, $2.80 \times 10^9/\text{L} \pm 0.51 \times 10^9/\text{L}$ vs $2.36 \times 10^9/\text{L} \pm 0.49 \times 10^9/\text{L}$, 均 $P < 0.05$)。

结论: 术前肠内营养能有效改善食道狭窄食管癌患者术前及术后营养状况, 对降低术后肺感染、切口感染发生率有益, 能有效降低术后吻合口瘘的发生率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 食管癌; 肠内营养; 吻合口瘘; 食道狭窄

核心提示: 术前肠内营养能改善食道狭窄食管癌患者术前及术后营养状况, 对降低术后肺感染、切口感染发生率有益, 能有效降低吻合口瘘的发生率。

2434-2439 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2434>

0 引言

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 进行性吞咽困难是中晚期食管癌特征性症状, 约80%-90%的食管癌患者出现吞咽困难, 其中约2/3以此为首发症状^[1], 患者因吞咽困难, 进食减少, 加之肿瘤消耗增加, 术前多伴有营养不良, 而术后营养不良与肺感染、切口感染及吻合口瘘等发生密切相关^[2]。目前, 食管癌营养支持可于术前及术后进行, 术后早期肠内营养能改善患者营养状况、降低并发症发生率和死亡率, 已得到多中心随机研究证实^[3], 而术前肠内营养对食道狭窄食管癌患者术后营养状况的改善及与并发症关系的相关文章较少。因此, 术前加强食道狭窄患者的营养支持, 以维持良好的营养状态和免疫功能, 对患者安全度过围手术期具有重要意义。我科对58例食道狭窄食管癌患者术前予以肠内营养支持, 观察术后肺感染、切口感染、吻合口瘘发生率及相关营养指标的变化, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-08/2012-12我院心胸外科收治的58例食道狭窄食管癌患者, 入选标准: (1)术前行X线钡餐造影及纤维胃镜检查, 确诊为食管癌, 并经胃镜确定食管管腔狭窄1/2以上; (2)进流食或半流食, 食道未完全梗阻; (3)无肝肾功能不全。58例患者入院时均依据主观全面评价方法(subjective global assessment, SGA)行营养评估(表1); 根据营养状况分为SGA-A级、SGA-B级及SGA-C级, 三级患者采用简单随机化分组方法随机分入试验组和对照组中, 每组各29例; 试验组术前予以肠内营养支持, 其中术前及术后不能耐受肠内营养制剂出组5例, 对照组术前予以日常饮食及肠外营养支持, 其中术后不能耐受肠内营养制剂出组5例, 两组试验期间均无死亡病例。剩余两组患者性别、年龄及一般临床资料比较均无统计学差异($P > 0.05$, 表2)。

1.2 方法

1.2.1 术前营养支持: 试验组术前给予肠内营养支持2 wk, 狭窄严重者胃镜置胃管, 予以鼻饲, 参考Harris-Benedict方程式计算患者每天的基本能量需求(basic energy expenditure, BEE), 在此基础上乘以校正系数C(男1.16, 女1.19)。同时为

■ 研究前沿

营养支持治疗是危重患者和消化道手术后不可缺少的治疗措施, 与患者预后密切相关。肠内营养目前已经广泛应用于食管癌术后早期营养支持, 可有效改善术后营养状态, 保护胃肠道屏障, 增强机体免疫功能。目前, 针对术前肠内营养支持的研究较少, 值得广大临床医生关注和研究。

路秦龙, 郑锴, 张鹏. 术前肠内营养对食道狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(24):

■相关报道

目前针对食管癌营养支持的相关文章大多数集中于术后早期,而术前营养支持的研究较少,且术前营养支持在整个围手术期中的作用逐渐加重,故本文把研究点在食管癌术前,着重探讨术前肠内营养对术后营养状况改善及感染的影响。

表 1 SGA主要内容及评价标准

指标	A级	B级	C级
近期(2 wk)体质量改变	无/升高	减少<5%	减少>5%
饮食改变	无	减少	不进食/低能量流质
胃肠道症状	无/食欲不减	轻微恶心、呕吐	严重恶心、呕吐(持续2 wk计)
活动能力改变	无/减退	能下床活动	卧床
应激反应	无/低度	中度	高度
肌肉消耗	无	轻度	重度
三头肌皮褶厚度	正常	轻度减少	重度减少
踝部水肿	无	轻度	重度

上述8项中,若选项B≥5项,定为SGA-B(轻-中度营养不良);若选项C≥5项,定为SGA-C(重度营养不良)。SGA: 主观全面评价方法。

表 2 两组患者一般情况比较(例)(n=24)

分组	试验组	对照组	χ^2 值
性别(男)	17	18	0.105
年龄≥60岁	14	13	0.085
吸烟	17	16	0.097
COPD	12	13	0.083
哮喘	6	5	0.118
营养评估(SGA)			
SGA-A	12	12	0.253
SGA-B	9	10	
SGA-C	3	2	
肿瘤部位			
中段	18	17	0.105
下段+贲门	6	7	
手术方式			
左开胸	5	6	0.118
腹腔镜+右开胸	19	18	
术后病理			
鳞癌	20	21	0.167
腺癌	4	3	
肿瘤分期			
I期	1	2	0.542
II期	5	6	
III期	18	16	

COPD: 慢性阻塞性肺病; SGA: 主观全面评价方法。

维持患者体力活动的的能力,男女分别增加10%及30%的基本能量需求。采用纽迪希亚制药(无锡)有限公司生产的即用型液体肠内营养制剂能全力给予营养支持,营养素组成(g/500 mL): 蛋白质20.09、脂肪19.59、碳水化合物61.59,每瓶500 mL提供2000 kJ热量。对照组给予等热量日常饮食2 wk,不足者予以肠外营养补充。两组均给予相同条件的常规治疗,如戒烟、沐舒坦化痰、氧疗、纠正水电解质紊乱等。

1.2.2 术后营养支持: 两组患者术中均放置空肠鼻饲管,术后第1天经鼻饲管以25-30 mL/h的速度泵入5%糖盐水500 mL,第2天经鼻饲管泵入能全力500 mL, 30-50 mL/h,第3天为1000 mL, 60-80 mL/h,第4天则根据每天总热量(30 kcal/kg)的计算结果,决定能全力的维持剂量,80-100 mL/h,第5-6天经鼻饲管泵入维持剂量的能全力,80-100 mL/h,第7天开始每天减少500 mL,并逐渐过渡到正常饮食。

表 3 两组患者术后肺感染、切口感染及吻合口瘘发生率 ($n = 24$)

项目	试验组		对照组		χ^2 值	P值
	n	发生率(%)	n	发生率(%)		
肺感染	1	4.17	4	16.67	2.009	0.156
切口感染	2	8.33	5	20.83	1.505	0.220
吻合口瘘	0	0	4	16.67	4.364	0.037

表 4 两组患者血清营养指标变化比较 ($n = 24$)

分组	血清白蛋白(g/L)			血红蛋白(g/L)			转铁蛋白(g/L)			淋巴细胞计数($\times 10^9/L$)		
	术前 14 d	术前 1 d	术后 7 d	术前 14 d	术前 1 d	术后 7 d	术前 14 d	术前 1 d	术后 7 d	术前 14 d	术前 1 d	术后 7 d
试验组	35.99 ± 2.43	37.69 ± 2.43	36.77 ± 2.07	117.88 ± 7.21	123.36 ± 6.41	118.34 ± 6.19	2.07 ± 0.34	2.34 ± 0.40	2.01 ± 0.37	1.94 ± 0.49	2.24 ± 0.50	2.80 ± 0.51
对照组	35.03 ± 2.14	36.21 ± 1.87	34.51 ± 1.49	119.38 ± 5.96	120.49 ± 7.17	113.93 ± 6.85	2.05 ± 0.35	2.12 ± 0.44	1.77 ± 0.34	2.01 ± 0.51	2.05 ± 0.47	2.36 ± 0.49
t值	1.460	2.377	4.335	0.785	1.465	2.343	0.084	1.746	2.339	0.461	1.380	3.029
P值	0.151	0.022	0.000	0.436	0.150	0.023	0.934	0.087	0.024	0.647	0.174	0.004

1.2.3 观察指标: (1)术前第14天、术前第1天及术后第7天清晨抽取肘静脉血, 进行血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白含量测定及淋巴细胞计数; (2)术后肺部感染诊断标准: 依据卫生部制定的《医院感染诊断标准》中下呼吸道感染; (3)定乙级或丙级伤口愈合为全组研究切口感染; (4)吻合口瘘诊断: 依据口服亚甲蓝后抽出蓝色胸腔积液。

统计学处理 运用统计学原理及SPSS17.0统计软件对数据进行整理分析, 计量资料以mean ± SD, 计数资料采用 χ^2 检验, 组间比较用独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者术后肺感染、切口感染及吻合口瘘发生率 试验组术后肺感染、切口感染发生率低于对照组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 试验组术后吻合口瘘发生率显著低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表3)。

2.2 两组患者术前14 d、术前1 d及术后7 d血清营养指标 术前14 d, 两组患者血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白及淋巴细胞计数比较, 均未见统计学差异($P > 0.05$); 术前1 d, 试验组血清白蛋白高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 血红蛋白、转铁蛋白及淋巴细胞计数高于对照组, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 术后7 d, 试验组血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白及淋

巴细胞计数均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表4)。

3 讨论

肠黏膜是机体代谢最旺盛、更新最快的组织, 对缺血、营养素缺乏极为敏感。肠黏膜不仅从血液中摄取营养素, 更主要从肠腔内容物中摄取各种主要营养素, 而这种营养方式占总营养底物摄取的70%^[4], 以维持自身的生长、修复。食管癌患者就诊时多数病变已达中晚期, 食道梗阻明显, 进食减少, 内脏血流及各种消化液分泌减少, 肠腔内提供的营养底物减少, 可使肠道黏膜屏障和免疫屏障受到破坏, 加之肿瘤消耗及手术创伤应激致机体代谢增高、术后胃肠道正常解剖与功能改变等因素使原有的营养不良状况加重。营养不良不仅可导致患者免疫功能受损, 术后肺感染、手术切口感染率增加, 还可使吻合口、创口延迟愈合, 甚至发生吻合口瘘, 使病死率增加^[2]。

术前肠内营养可早期改善食管癌患者的营养状况, 增强机体的营养储备和免疫功能, 改善呼吸肌力量, 显著提高低肺功能食管癌患者的呼吸功能^[5], 预防术后肺部感染的发生。Takeuchi等^[6]研究证实, 术前肠内免疫营养能降低术后切口感染及肺感染的发生率, 同时可能减少术后严重并发症的发生。本组研究显示: 试验组术后肺感染的发生率为4.17%, 低于对照组16.67%,

■应用要点

食管癌患者入院时均应进行有效地营养评估, 结合营养评估使用营养支持, 本研究的价值在于为食管癌术前肠内营养支持的选用提供临床依据, 指导术前营养不良的治疗。食管癌术前肠内营养支持在将来可能得以广泛应用, 使食管癌术后营养不良和并发症的发生率有效降低, 增加围手术期生存率。

■同行评价

结合营养评估分级将患者随机分入两组中, 研究结果可信度更高, 且食管癌术前营养问题日益得到重视, 该研究具有一定临床应用价值。

但未见统计学差异($P>0.05$), 说明术前肠内营养可能减少术后肺感染的发生率。此外, 术后肺感染还与长期吸烟史、手术方式、肺部基础疾病等因素相关^[7], 在本组研究中这些相关因素在两组患者间比较均未见显著差异(均 $P>0.05$); 试验组术后手术切口感染率为8.33%, 低于对照组20.83%, 但无统计学差异($P>0.05$), 说明术前肠内营养可能减少术后切口感染的发生率, 但是切口感染还可能与术中缝合技术、术后伤口护理、基础性疾病等因素相关。试验组术后无吻合口瘘发生, 显著低于对照组16.67%($P<0.05$), 说明术前肠内营养能有效降低食道狭窄食管癌患者术后吻合口瘘的发生率。肠内营养能提高食管癌患者外周血免疫球蛋白(IgA、IgG和IgM)、T淋巴细胞亚群和白介素-2水平, 增强其免疫功能^[8,9], 这可能与本组研究中试验组术后肺感染、手术切口感染及吻合口瘘发生率较低有关。

食管癌患者营养不良主要表现为蛋白质能量缺乏型营养不良, 对食管癌患者进行术前肠内营养支持, 更有利于术后对消化系营养的吸收和利用, 可以使内脏蛋白的消耗得到一定的恢复, 更好的改善患者术后营养状态^[4], 维持术后良好的免疫功能^[10]。王军等^[11]证实, 合理的肠内营养支持能有效改善老年吞咽困难患者的营养状态和免疫功能。本组研究显示, 试验组经过2 wk的肠内营养支持, 其术前第1天血清白蛋白水平已高于对照组($P<0.05$), 血红蛋白、转铁蛋白及淋巴细胞计数均高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 术后第7天, 试验组血清白蛋白、血红蛋白、转铁蛋白及淋巴细胞计数均高于对照组($P<0.05$), 说明术前肠内营养支持治疗能改善食道狭窄食管癌患者术前及术后营养状况, 减少术后内脏蛋白的消耗, 增强机体的免疫功能, 有利于患者围手术期的康复。

术前肠内营养能有效改善食道狭窄食管癌患者术后营养状况, 降低肺感染、切口感染及吻合口瘘的发生率, 分析其原因: (1)食道狭窄致长期摄食减少, 肠黏膜萎缩, 术前肠内营养可刺激肠黏膜细胞生长, 促进胃肠道激素分泌, 维持肠黏膜结构完整, 有利于术后肠道功能的利用^[4]; (2)术前肠内营养能增加营养储备, 增强术后抗应激、抗营养不良的能力; (3)肠内营养保持肠黏膜的机械屏障、生物屏障、免疫屏障及化学屏障, 能减少术后早期肠源性感染的发生^[12,13]; (4)肠内营养液中富含免疫营养物质, 如谷氨酰胺(Gln)、膳食纤维、精氨酸及

ω -3脂肪酸等^[14-16], 维持和增强了肠道相关淋巴组织的功能, 有利于肠道免疫功能及全身免疫功能的改善。

总之, 术前肠内营养能改善食道狭窄食管癌患者术前及术后营养状况, 对降低术后肺感染、切口感染发生率有益, 能有效降低吻合口瘘的发生率。

4 参考文献

- 1 徐乐天, 张志庸. 协和胸外科学. 第2版. 北京: 科学技术出版社, 2010: 672-698
- 2 Fujita T, Daiko H, Nishimura M. Early enteral nutrition reduces the rate of life-threatening complications after thoracic esophagectomy in patients with esophageal cancer. *Eur Surg Res* 2012; 48: 79-84 [PMID: 22377820 DOI: 10.1159/000336574]
- 3 Barlow R, Price P, Reid TD, Hunt S, Clark GW, Havard TJ, Puntis MC, Lewis WG. Prospective multicentre randomised controlled trial of early enteral nutrition for patients undergoing major upper gastrointestinal surgical resection. *Clin Nutr* 2011; 30: 560-566 [PMID: 21601319 DOI: 10.1016/j.clnu.2011.02.006]
- 4 周海英, 吴爱萍, 陈银苹. 术前肠内营养对食管癌患者术后营养状况的影响分析. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 133-134
- 5 王晋祥, 张鹏, 王双林, 崔元涛, 王俊义. 术前肠内营养对低肺功能食管癌患者的呼吸功能的影响. *天津医药杂志* 2013; 41: 254-256
- 6 Takeuchi H, Ikeuchi S, Kawaguchi Y, Kitagawa Y, Isobe Y, Kubochi K, Kitajima M, Matsumoto S. Clinical significance of perioperative immunonutrition for patients with esophageal cancer. *World J Surg* 2007; 31: 2160-2167 [PMID: 17876664]
- 7 张波, 陈保富, 金将, 叶中瑞, 马德华, 叶敏华, 王春国, 孔敏, 张健, 朱成楚, 叶加洪. 腔镜联合食管癌根治术后合并肺部感染危险因素分析. *中华医院感染学杂志* 2013; 23: 1349-1351
- 8 Yu G, Chen G, Huang B, Shao W, Zeng G. Effect of early enteral nutrition on postoperative nutritional status and immune function in elderly patients with esophageal cancer or cardiac cancer. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 299-305 [PMID: 23825906 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604]
- 9 周志刚. 早期肠内营养对患者免疫与营养状态及术后感染的影响观察. *中华医院感染学杂志* 2013; 23: 2638-2640
- 10 Seike J, Tangoku A, Yuasa Y, Okitsu H, Kawakami Y, Sumitomo M. The effect of nutritional support on the immune function in the acute postoperative period after esophageal cancer surgery: total parenteral nutrition versus enteral nutrition. *J Med Invest* 2011; 58: 75-80 [PMID: 21372490]
- 11 王军, 吴志峰. 肠内营养乳剂在高龄吞咽困难病人营养支持中的应用. *肠内与肠外营养* 2013; 20: 83-86
- 12 张霖, 付茂勇, 杨绍福, 贾科. 食管癌术后空肠穿刺造瘘肠内营养支持的临床效果. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2709-2712
- 13 肖帅, 刘龙飞, 孙鑫国, 李峰, 张树友. 不同时机肠内营养对重症急性胰腺炎肠源性感染的影响. *实用医学杂志* 2013; 29: 45-47
- 14 Fukuda T, Seto Y, Yamada K, Hiki N, Fukunaga T, Oyama S, Yamaguchi T. Can immune-enhancing

- nutrients reduce postoperative complications in patients undergoing esophageal surgery? *Dis Esophagus* 2008; 21: 708-711 [PMID: 18847452 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00861.x]
- 15 Aiko S, Yoshizumi Y, Ishizuka T, Horio T, Sakano T, Kumano I, Kanai N, Maehara T. Enteral immunoenhanced diets with arginine are safe and beneficial for patients early after esophageal cancer surgery. *Dis Esophagus* 2008; 21: 619-627 [PMID: 18459991 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008]
- 16 Mudge L, Isenring E, Jamieson GG. Immunonutrition in patients undergoing esophageal cancer resection. *Dis Esophagus* 2011; 24: 160-165 [PMID: 20946133 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2010.01117.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理.

3 版权

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

自身免疫性肝炎患者抗中性粒细胞胞质抗体谱的检测

黄新辉, 张玉红, 谭立明, 邹小健, 陈娟娟, 李 华, 王外梅

■背景资料

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫介导的慢性炎症, 自身抗体的检测是当下临床诊断AIH的重要手段, 但是往往无理想的高敏感性及高特异性抗体, 抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱, 探讨联合检测ANCAs对诊断AIH的临床意义。

黄新辉, 邹小健, 江西省丰城市人民医院 江西省丰城市 331100

张玉红, 南昌大学第二临床学院 江西省南昌市 330006

谭立明, 陈娟娟, 李华, 王外梅, 南昌大学第二附属医院检验科 江西省南昌市 330006

黄新辉, 主管技师, 主要从事临床免疫检验的相关研究。

南昌市科技局基金资助项目, No. 2011-ZCSF-YLWSYRKJK-066

作者贡献分布: 研究经费、实验设计、实验质量控制及论文修改由谭立明负责; 黄新辉与张玉红负责实验研究与论文撰写; 邹小健、陈娟娟、李华及王外梅参与实验研究。

通讯作者: 谭立明, 主任技师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院检验科. yuuje@126.com

电话: 0791-82867799

收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Clinical significance of detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with autoimmune hepatitis

Xin-Hui Huang, Yu-Hong Zhang, Li-Ming Tan,
Xiao-Jian Zou, Juan-Juan Chen, Hua Li, Wai-Mei Wang

Xin-Hui Huang, Xiao-Jian Zou, People's Hospital of
Fengcheng City, Fengcheng 331100, Jiangxi Province,
China

Yu-Hong Zhang, Second Clinical Medical College of
Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province,
China

Li-Ming Tan, Juan-Juan Chen, Hua Li, Wai-Mei Wang,
Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital
of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi
Province, China

Supported by: Nanchang Technology Foundation, No.
2011-ZCSF-YLWSYRKJK-066

Correspondence to: Li-Ming Tan, Chief Technician, Department
of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital
of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006,
Jiangxi Province, China. yuuje@126.com

Received: 2013-05-08 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore the significance of detection of anti-myeloperoxidase antibody (ANCAs) in the diagnosis of autoimmune hepatitis (AIH).

METHODS: In total, 48 AIH patients, 190 non-AIH patients and 50 healthy volunteers were

included in this retrospective study. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect anti-RP3, anti-MPO and ALA, while indirect immunofluorescence (IIF) was employed to detect ANCAs.

RESULTS: The positive rates of ANCA, p-ANCA, x-ANCA and ALA in the AIH group had significant differences compared with the non-AIH group (except for PSC). The positive rate of anti-MPO was significantly higher in the AIH group than in the non-AIH group ($P < 0.01$). Of all specimens in the AIH group, only 1 was positive for c-ANCA and PR3 simultaneously. There was a good correlation between anti-MPO and ANCA, between anti-MPO and p-ANCA, and between ALA and x-ANCA in the AIH group. The kappa values of anti-MPO and ANCA as well as anti-MPO and p-ANCA were 0.819 and 0.875, respectively, showing excellent agreement.

CONCLUSION: Combined detection of ANCAs is helpful for the diagnosis of AIH and AIH subtypes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; Anti-lactoferrin antibody; Anti-proteinase 3 antibody; Anti-myeloperoxidase antibody

Huang XH, Zhang YH, Tan LM, Zou XJ, Chen JJ, Li H, Wang WM. Clinical significance of detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with autoimmune hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2440-2445 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2440>

摘要

目的: 探讨抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs)检测在自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)患者的临床诊断价值, 为AIH的相关研究提供临床依据。

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院
消化内科

方法: 对南昌大学第二附属医院2008-07/2012-03符合纳入标准的48例AIH、190例非-AIH患者及50例健康体检者采用ELISA法检测抗乳铁蛋白抗体(anti-lactoferrin antibody, ALA)、抗蛋白酶3抗体(抗-PR3)和抗髓过氧化物酶抗体(抗-MPO), 免疫荧光法检测ANCAs, 回顾性分析检测结果。

结果: (1)AIH组ANCA、p-ANCA、x-ANCA及ALA阳性率与非-AIH各组(PSC除外)比较有统计学意义, 抗-MPO阳性率为54.2%, 与非AIH各组比较均有 $P<0.01$; (2)所有标本中仅AIH组有1例同时c-ANCA、抗-PR3阳性, 虽对诊断AIH特异性高但无临床价值; (3)配对 χ^2 检测, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA, ALA与x-ANCA对AIH的诊断无统计学意义; 一致性分析, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA κ 值为0.819、0.875, 一致性极好。

结论: ANCAs抗体间存在一定的相关性, 联合检测可提高AIH的诊断率, 对AIH患者的临床鉴别、诊断有重要意义。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 自身免疫性肝炎; 抗中性粒细胞胞质抗体谱; 抗乳铁蛋白抗体; 抗蛋白酶3抗体; 抗髓过氧化物酶抗体

核心提示: 抗-MPO与抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs)、p-ANCA抗体间极度相关性, 存在共同影响自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)的可能, 联合检测ANCAs可提高AIH的诊断率, 采用正确的串并联检测方式对AIH的临床诊断及鉴别诊断有重要价值。

黄新辉, 张玉红, 谭立明, 邹小健, 陈娟娟, 李华, 王外梅. 自身免疫性肝炎患者抗中性粒细胞胞质抗体谱的检测. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2440-2445 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2440.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2440>

0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种由自身免疫介导的损伤肝脏的慢性炎症, 严重影响患者的生活质量, 且常伴有其他自身免疫性疾病较难辨别, 如不及早确诊接受正确治疗发展为肝硬化后果严重^[1]. 相关自身抗体阳性是AIH的主要表现之一, 自身抗体的检测是当下临床诊断自身免疫性疾病的重要手段, 但是

往往无理想的高敏感性及高特异性抗体, 联合检测自身抗体谱可提高诊断率, 本研究采用免疫荧光法和ELISA法检测南昌大学第二附属医院符合纳入标准的48例AIH及190例非AIH患者及50例健康体检者血清中抗中性粒细胞胞质抗体谱(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCAs), 总结并回顾性分析检测结果, 探讨其对AIH的临床诊断价值, 现将研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 48例AIH及190例非AIH患者来自2008-07/2012-03在南昌大学第二附属医院门诊、住院确诊病例. 48例AIH患者中男6例、女42例, 13-68岁, 平均40岁. 190例非AIH分别为原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)53例, 男8例、女45例, 22-68岁, 平均45岁; 原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)26例, 男17例、女9例, 21-65岁, 平均40岁; 乙型肝炎(hepatitis B, HB)65例, 男28例、女45例, 18-60岁, 平均35岁; 丙型肝炎(hepatitis C, HC)46例, 男21例、女25例, 20-60岁, 平均42岁. 对照组50例均为南昌大学第二附属医院体检中心健康体检者, 男20例、女30例, 23-59岁, 平均38岁. 所有入选者自愿参与并签署知情同意书. 诊断依据: (1)自身免疫性肝病参考2010年美国肝病学会最新诊疗指南^[2]; (2)病毒性肝炎参考中华卫生部2008年更新的病毒性肝炎诊断指南^[3]. 纳入标准: 符合所有条件者予以纳入: (1)知情并自愿参与研究; (2)符合诊断标准且有完整临床资料或肝组织学病理资料; (3)对所有自愿参与患者的资料重新评估, 否定合并血色病、抗胰蛋白酶缺乏症、Wilson病等其他遗传性肝损疾病及其他获得性肝脏疾病, 否定合并痛风、糖尿病、苯丙酮尿症; (4)发病前大量饮酒史, 无明确服用肝毒性药物史, 无恶性肿瘤史, 无酒精性肝病等其他肝脏疾病史. 排除标准: 以下情况者予以剔除: (1)妊娠或哺乳期妇女、失代偿期肝硬化患者; (2)不符合纳入标准。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集: 采集空腹静脉不抗凝血2.0-3.0 mL, 1000 g离心15 min分离血清, -20 °C冷冻待检, 避免反复冻融。

1.2.2 间接免疫荧光法: 检测ANCAs, 包括核周型抗中性粒细胞胞质抗体(perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, p-ANCA)、胞质型抗中性粒细胞胞质抗体(cytoplasmic antineutrophil

■ 研发前沿

本研究采用ELISA法检测ALA、抗-PR3和抗-MPO, 免疫荧光法检测ANCAs, 回顾性分析检测结果, 分析自身抗体在AIH患者的临床诊断价值及抗体间的相关性以及联合检测对提高AIH诊断率的价值。

■ 相关报道

Deniziaut报道 ANCA是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱;谭立明等研究发现抗-MPO与AIH存在密切关系;Mahler等发现大量中性粒细胞颗粒蛋白如乳铁蛋白在AIH、PSC不同程度的表现为阳性,RP3、MPO被认为是ANCA的靶抗原。

表 1 自身免疫性肝炎及非自身免疫性肝炎患者自身抗体检测结果 $n(\%)$

分组	n	抗中性粒细胞胞质抗体	核周型抗中性粒细胞胞质抗体	胞质型抗中性粒细胞胞质抗体	不典型抗中性粒细胞胞质抗体	抗髓过氧化物酶抗体	抗蛋白酶3抗体	抗乳铁蛋白抗体
自身免疫性肝炎	48	31(64.6)	25(52.1)	1(2.1)	10(20.8)	26(54.2)	1(2.1)	9(18.8)
非-自身免疫性肝炎	190	18(9.47) ^{bc}	15(7.89) ^{bc}	0(0.0)	5(2.63) ^b	7(3.68) ^b	0(0.0)	1(0.53) ^b
原发性胆汁性肝硬化	53	4(7.5)	3(5.7)	0(0.0)	3(5.7) ^a	4(7.5)	0(0.0)	0(0.0)
原发性硬化性胆管炎	26	13(50)	12(46.2)	0(0.0)	2(7.7)	3(11.5)	0(0.0)	1(3.8)
乙型肝炎	65	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
丙型肝炎	46	1(2.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
对照组	50	0(0.0) ^b	0(0.0) ^b	0(0.0)	0(0.0) ^b	0(0.0) ^b	0(0.0)	0(0.0) ^b

^a $P<0.01$ vs 自身免疫性肝炎; ^b $P<0.05$ vs 自身免疫性肝炎; ^c $P<0.05$ vs 对照组。

cytoplasmic antibody, c-ANCA)、不典型抗中性粒细胞胞质抗体(atypical antineutrophil cytoplasmic antibody, x-ANCA)。试剂盒由德国欧蒙公司生产, ANCA采用在生物薄片马赛克上覆有中性粒细胞(乙醇或甲醛固定)和Hep-2细胞和猴肝4种基质的复合片, 4℃保存备用。操作严格按照试剂说明及本室作业指导书进行。

1.2.3 ELISA法: 检测抗乳铁蛋白抗体(anti-lactoferrin antibody, ALA)、抗蛋白酶3抗体(anti-proteinase 3 antibody, 抗-PR3)、抗髓过氧化物酶抗体(anti-myeloperoxidase antibody, 抗-MPO), 试剂由德国欧蒙公司生产。将样品稀释, 按加样方案向相应微孔中分别加稀释血清、阴性、阳性对照和空白对照各100 μL, 室温温育30 min, 洗板3次, 加酶标抗体100 μL再室温温育30 min, 同前洗板3次, 加底物显色, 5 min后加终止液, 用450 nm波长比色, 计算结果。

1.2.4 评价指标: 根据经金标准确诊的患者体内抗体检测结果计算自身抗体的临床评价指标: 敏感性、特异性、准确性、阳性似然比、阴性似然比和约登指数均严格, 准确性>0.75、约登指数>0.5具有临床价值。串联试验, 联合灵敏度 = A灵敏度×B灵敏度, 联合特异度 = A特异度 + [(1-A特异度)×B特异度]; 并联试验, 联合灵敏度 = A灵敏度 + [(1-A灵敏度)×B灵敏度], 联合特异度 = A特异度×B特异度。

统计学处理 统计分析应用SPSS16.0软件, 计数资料以例数(百分比)描述。组间单因素分析采用 χ^2 检验, 抗体间优势分析采用配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 有显著性统计学意义, $P<0.01$ 有非常显著性统计学意义。抗体间一致性分析计算 κ 值, $P<0.01$ 时, 0.4-0.6为中度一致, 0.6-0.8为高度一

致, >0.8一致性极好, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 48例AIH及190例非AIH及50例健康体检者ANCA的抗体检测 结果AIH检测ANCA、p-ANCA、c-ANCA、x-ANCA、抗-MPO、抗-PR3及ALA结果显示其阳性率分别为64.6%、52.1%、2.1%、20.8%、54.2%, 2.1%、18.8%, 分别与非AIH组及对照组进行组间比较, 除x-ANCA外($P<0.05$), 均 $P<0.01$, 差异有非常显著性意义(表1)。

2.2 AIH患者自身抗体检测的各项临床评价指标结果 AIH相关自身抗体检测中的敏感性、特异性、准确性、阴性似然比、阴性似然比及约登指数最高分别为ANCA为64.58%、抗-PR3为100%、抗-MPO为89.93%、ALA为45%、抗-PR3和c-ANCA均为0.98%及ANCA为0.57%(表2)。

2.3 AIH组抗体间优势分析(p)和一致性分析(κ) 配对 χ^2 检测, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA, ALA与x-ANCA对AIH的诊断无统计学意义; 一致性分析, 抗-MPO与ANCA、p-ANCA κ 值为0.819、0.875, 一致性极好(表3)。

2.4 AIH自身抗体串、并联实验组的临床评价指标 单独检测约登指数无临床意义, A组: 抗-MPO和ANCA串联; B组: 抗-MPO和p-ANCA串联; C组: ALA和x-ANCA并联; D组: A和C并联; E组: B和C并联。联合检测约登指数有临床意义(>0.5), 提高了AIH的诊断率(表4)。

3 讨论

AIH是一种自身免疫性慢性肝炎, 发病原因可能

表 2 在自身免疫性肝炎中各项指标评价结果

分组	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	阴性似然比	阳性似然比	约登指数
抗中性粒细胞胞质抗体	64.58	92.50	87.85	8.61	0.38	0.57
核周型抗中性粒细胞胞质抗体	52.08	93.75	86.81	8.33	0.51	0.46
胞质型抗中性粒细胞胞质抗体	2.13	100	83.68	—	0.98	0.02
不典型抗中性粒细胞胞质抗体	20.83	97.92	85.07	10	0.16	0.19
抗髓过氧化物酶抗体	54.17	97.08	89.93	18.57	0.47	0.51
抗蛋白酶3抗体	2.13	100	83.68	—	0.98	0.02
抗乳铁蛋白抗体	18.75	99.58	86.11	45	0.82	0.18

■创新盘点

本研究用ELISA法检测ALA、抗-PR3和抗-MPO,免疫荧光法检测ANCAs,分析抗体间、抗体与AIH间相关性,抗体检测诊断AIH的一致性,采用串并联方式联合检测以提高AIH的诊断率。

表 3 AIH组抗体间优势分析P和一致性分析κ值

分组	抗中性粒细胞胞质抗体和抗髓过氧化物酶抗体	抗中性粒细胞胞质抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体	抗髓过氧化物酶抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和不典型抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和抗髓过氧化物酶抗体	抗乳铁蛋白抗体和抗中性粒细胞胞质抗体	抗乳铁蛋白抗体和核周型抗中性粒细胞胞质抗体
P值	0.062	0.031	1	1	0.002	0.000	0.004
κ值	0.819 ^b	0.747 ^b	0.875 ^b	0.672 ^b	0.036	0.225 ^a	-0.137

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 抗乳铁蛋白抗体和抗髓过氧化物酶抗体。

表 4 串、并联实验组临床评价指标

分组	A组	B组	C组	D组	E组
敏感性(%)	34.98	28.21	35.67	58.17	53.81
特异性(%)	99.78	99.81	97.51	97.30	97.32
约登指数	0.35	0.28	0.3318	0.55	0.51

A: 抗-MPO和ANCA串联; B: 抗-MPO和p-ANCA串联; C: ALA和x-ANCA并联; D: A和C并联; E: B和C并联。

与体内免疫微环境的平衡紊乱和免疫遗传背景及环境因素刺激引起的免疫耐受缺陷有关^[4],主要血清学和免疫学特征表现为γ-球蛋白或IgG升高、氨基转移酶增高、自身抗体阳性,组织学病理特点为汇管区浆细胞或白细胞浸润、界面性肝炎、桥接坏死及慢性纤维化,急性加重期或急性发病时出现明显的小叶中心带坏死^[5]。AIH多见于中年女性,男女比例约为1.0:3.6,无明显特异性症状且缺乏特异性及高敏感性诊断指标,导致AIH诊断困难,若不及时治疗发展至肝功能失代偿性肝硬化,6 mo病死率高达40%,此时肝移植是唯一有效的办法,所以及早确诊对AIH患者的预后极为重要,临床常结合患者血清学检测结果、临床表现及肝组织病理表现综合考虑甚至做排除性诊断,随着免疫学检验技术的不断提高,可采用联合检测自身抗体的方法提高疾病的诊断率。

ANCAs是由专门针对中性粒细胞或单核细胞浆靶抗原的一组异质性抗体组成的抗体谱^[6],其免疫荧光染色型包括核周型p-ANCA、胞质型c-ANCA、非典型x-ANCA等,其中p-ANCA常出现在AIH和PSC患者血清中,PBC较少见,与中性粒细胞核膜蛋白相结合,常用于PSC、AIH重新分型或一些不明原因的慢性肝脏疾病的检测。髓过氧化物酶(myeloperoxidase deficiency, MPO)是中性粒细胞功能与活化的标志,也是p-ANCA的主要靶抗原之一,MPO被p-ANCA结合后功能受到抑制,体内免疫系统出现异常,血清中抗髓过氧化物酶抗体(抗-MPO)必然发生变化,p-ANCA染色主要是MPO的作用结果,核外周具有广泛的、不均匀的多个荧光病灶。p-ANCA阳性可表现在AIH与PSC重叠综合征患者中,在小孩体内更为明显,据报道^[6]在I-AIH中检测p-ANCA阳性率为37%-96%,可能与研究者及研究对象的不同有关,然而其是否与预后相关仍未得到证实。胞质型c-ANCA主要靶抗原是一种叫蛋白酶3(proteinase 3, PR3)的中性丝氨酸蛋白酶,是中性粒细胞嗜天青颗粒的主要成分,大量中性粒细胞颗粒蛋白(MPO、PR3除外),比如乳铁蛋白,这些抗原在AIH、PSC等患者体内不同程度的表现为阳性,敏感性为17%-60%,RP3、MPO被认为是ANCAs的靶抗原^[7,8],本试验检测所有标本中仅AIH组有1例且同时抗-PR3、c-ANCA抗体

■应用要点

临床常结合患者血清学检测结果、临床表现及肝组织病理表现综合考虑甚至做排除性诊断,但是常伴有其他自身免疫性疾病较难辨别,往往无理想的高敏感性、高特异性抗体,随着免疫学检验技术的不断提高,可采用联合检测自身抗体的方法提高疾病的诊断率。

阳性,虽对诊断AIH特异性高达100%,但敏感性极低,有效性无临床价值,对诊断AIH无意义。研究^[9]发现抗-MPO与AIH存在密切关系。作者对48例AIH、190例非AIH患者及50例健康体检者联合检测ANCAs,综合分析发现,其对AIH和其他肝脏疾病的明确诊断及临床鉴别有重要价值。

我们检测AIH组ANCA、p-ANCA阳性率为64.6%(31/48)、52.1%(25/48),与报道^[10-12]一致,与PBC及病毒性肝炎比较,经 χ^2 检验均为 $P<0.01$,有非常显著性统计学意义,ANCA对AIH的敏感性最高为64.58%,准确性87.85%,约登指数为0.57, p-ANCA对AIH的敏感性最高为52.08%,准确性86.81%,有临床价值,但是PSC组检测ANCA、p-ANCA阳性率为50%、46.2%,经 χ^2 检验,与AIH组比较均无统计学意义。AIH组抗-MPO阳性率为54.2%(26/48),PBC及PSC组阳性率为7.5%(4/53)、11.5%(3/26),经 χ^2 检验 $P<0.01$,均有非常显著性统计学意义,抗-MPO对AIH的敏感性高达54.17%,特异性高达97.08%,准确性最高89.93%,约登指数为0.51有临床意义,本研究表明检测抗-MPO对AIH的临床诊断、与其他肝脏疾病相鉴别及AIH发病机制的相关研究存在重要价值,特别是对AIH和PSC的鉴别有重要意义。AIH组抗体间优势分析,经配对 χ^2 检验,抗-MPO与ANCA、p-ANCA间 $P>0.05$,可见ANCA、p-ANCA两者与抗-MPO对AIH的诊断无统计学意义;ANCAs抗体间一致性分析,抗-MPO与ANCA、p-ANCA的 κ 值为0.819($P<0.01$)、0.875($P<0.01$),一致性极好,ANCA与p-ANCA的 κ 值为0.747($P<0.01$),属于高度一致,经统计分析抗-MPO、ANCA、p-ANCA三者在AIH患者体内存在互相联系甚至相互影响,为进一步研究AIH的发病机制提供了临床依据。

AIH组检测ALA阳性率为18.8%,非-AIH组各组(PSC除外)均为阴性,经 χ^2 检验 $P<0.01$,均有非常显著性统计学意义,且PSC组仅发现1例阳性,ALA对AIH的特异性最高为99.58%,虽然敏感性仅为18.75%,但准确性高达86.11%,有临床价值,显然ALA对AIH有高特异性,对AIH的鉴别诊断有重要价值。AIH组检测x-ANCA阳性率为20.8%,PBC组阳性率为5.7%,经 χ^2 检验 $P<0.05$,有显著性统计学意义,但PSC组与AIH组比较 $P>0.05$,x-ANCA对AIH的特异性高达97.08%,准确性为85.07%,亦有临床意义。AIH组抗体间优势分析,配对 χ^2 检验,ALA与x-ANCA有 $P>0.05$,对AIH的诊断无统计学意义,且两者一致性分析

κ 值为0.672($P<0.01$),属于高度一致,研究表明乳铁蛋白是中性粒细胞的一种颗粒蛋白,通过本研究可能这种颗粒蛋白与x-ANCA在患者体内有相互联系,对AIH影响的具体机制尚待研究。经配对 χ^2 检验,ALA与抗-MPO、ANCA、p-ANCA均有 $P<0.01$,对AIH的诊断有非常显著性统计学意义,且基本无一致性,可见虽然三者分别对AIH都较显著的敏感性或特异性,但抗体间无相关性,对AIH的影响可能不存在相互作用^[13-15],具体机制有待进一步研究。

肝组织的免疫损伤是病毒性肝炎的主要发病机制,研究^[9]发现病毒性肝炎可引起自身免疫紊乱导致机体免疫机制损伤,感染病毒性肝炎后可诱发自身免疫性肝病,病毒性肝炎患者体内可检测到多种自身抗体阳性,导致难以鉴别自身免疫性肝病和病毒性肝炎以及两者合并的患者。我们通过研究发现,AIH组检测ANCA、p-ANCA、x-ANCA、抗-MPO、ALA阳性率分别为64.6%、52.1%、20.8%、54.2%、18.8%,与病毒性肝炎相比,经 χ^2 检验 $P<0.01$,均有非常显著性统计学意义,且病毒性肝炎中仅发现1例HCV患者ANCA阳性,ANCAs其余抗体均为阴性,显然检测ANCAs对鉴别诊断自身免疫性肝病和病毒性肝炎及两者重叠综合征有重要意义。在疾病的演变及治疗过程中,血清中多样性及多变性的相关自身抗体含量有所波动,所以绝对的、单一的抗体检测结果不能作为AIH的诊断指标。我们通过采用联合检测患者血清中ANCAs,并试图采用串、并联的方法提高AIH的诊断率,经统计分析抗-MPO、ANCA及p-ANCA三者在AIH高度一致,且三者在AIH中阳性率相对较高,ALA与x-ANCA高度一致,观察检测结果ANCAs中唯有抗-MPO对AIH与PSC有统计学意义,串联检测抗-MPO、ANCA或串联检测抗-MPO、p-ANCA(都为阳性是才判为阳性),ALA、x-ANCA对AIH的特异性较高,并联检测ALA、x-ANCA(任何一个为阳性就判为阳性),再将两结果并联可提高抗体检测对诊断AIH的敏感性和特异性。通过实验作者认识到,单独检测ANCAs中的抗体,仅抗-MPO、ANCA约登指数大于0.5,且抗-MPO、ANCA相关性高度一致,敏感性分别为54.17%、64.58%,单独检测对AIH有意义并不大,抗-MPO阳性率在AIH与非AIH都有非常显著性统计学意义,将抗-MPO与ANCA或p-ANCA串联后再与ALA、x-ANCA并联,结果令人欣慰,敏感性为58.17%、53.81%,

敏感性为97.30%、97.32%, 通过这种综合考虑 ANCA的方法将诊断AIH的约登指数提高到了0.5以上, 具有临床价值。

ANCAs抗体间存在一定相关性, 存在共同影响AIH的可能, 具体机制尚待进一步探究, 联合检测ANCAs可提高AIH的诊断率, 采用正确的串并联检测方式对AIH的临床鉴别及诊断有重要价值。

4 参考文献

- 1 Gugenheim J, Castaing D, Bismuth H. [Liver transplantation. Technical aspects]. *Soins Chir* 1987; (78-79): 17-19 [PMID: 3321327 DOI: 10.5812/hepatmon.808]
- 2 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 3 The People's Republic of China Ministry of Health (WS299-2008) in diagnosis of infectious diseases in standard. Beijing: Standards Press of China, 2008: 298-301
- 4 Mackay IR. Autoimmune hepatitis: what must be said. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 350-353 [PMID: 23174606 DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.11.001]
- 5 Vergani D, Mieli-Vergani G. Cutting edge issues in autoimmune hepatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 309-321 [PMID: 21207191 DOI: 10.1007/s12016-010-8236-9]
- 6 Deniziaut G, Ballot E, Johanet C. Antineutrophil cytoplasmic auto-antibodies (ANCA) in autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 105-107 [PMID: 22998811 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.07.008]
- 7 Lochman I, Král V, Lochmanová A, Lupač J, Cebecauer L. ANCA in the diagnosis of neutrophil-mediated inflammation. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 295-298 [PMID: 21094701 DOI: 10.1016/j.autrev.2010.11.003]
- 8 Mahler M, Radice A, Yang W, Bentow C, Seaman A, Bianchi L, Sinico RA. Development and performance evaluation of novel chemiluminescence assays for detection of anti-PR3 and anti-MPO antibodies. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 719-726 [PMID: 22265712 DOI: 10.1016/j.cca.2012.01.004]
- 9 谭立明, 彭卫华, 董叶, 李华, 刘宁, 蔡莉莉, 章白苓, 王园园. 抗髓过氧化物酶抗体检测对诊断自身免疫性肝炎的临床意义. *免疫学杂志* 2009; 25: 697-700, 704
- 10 王爱莉. 92例自身免疫性肝炎患者自身抗体测定的结果分析. *国际检验医学杂志* 2011; 32: 1240-1241
- 11 Iguchi A, Wada Y, Kobayashi D, Sato H, Oyama T, Nakatsue T, Murakami S, Kuroda T, Nakano M, Narita I. A case of MPO- and PR3-ANCA-positive hypertrophic cranial pachymeningitis with elevated serum IgG4. *Mod Rheumatol* 2013; 23: 151-155 [PMID: 22350578 DOI: 10.1007/s10165-012-0613-1]
- 12 Radice A, Bianchi L, Sinico RA. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: methodological aspects and clinical significance in systemic vasculitis. *Autoimmun Rev* 2013; 12: 487-495 [PMID: 22921790 DOI: 10.1016/j.autrev.2012.08.008]
- 13 Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune manifestations in viral hepatitis. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 73-85 [PMID: 23010889 DOI: 10.1007/s00281-012-0328-6]
- 14 Hervier B, Hamidou M, Haroche J, Durant C, Mathian A, Amoura Z. Systemic lupus erythematosus associated with ANCA-associated vasculitis: an overlapping syndrome? *Rheumatol Int* 2012; 32: 3285-3290 [PMID: 21805174 DOI: 10.1007/s00296-011-2055-z]
- 15 Tanaka A, Tsujimoto I, Ito Y, Sugiura Y, Ujihira N, Sezaki R. Temporal artery involvement in microscopic polyangitis. *Intern Med* 2011; 50: 1033-1037 [PMID: 21532228]

■同行评价

本文选题结合临床, 设计合理, 可读性和科学性较好, 研究结果具有一定的学术意义和临床参考价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



复方嗜酸乳杆菌治疗对早期肝硬化患者补体和T淋巴细胞亚群的影响

尚惺杰

■背景资料

肝硬化患者存在肠道微生态失衡, 现发现微生态制剂具有生物化学屏障作用调节肠道菌群平衡作用。本文对早期肝硬化患者在常规保肝治疗的基础上辅助应用口服复方嗜酸乳杆菌进行治疗以探讨其对肝硬化患者血清补体和T淋巴细胞免疫功能的影响, 目前相关研究报道较少。

尚惺杰, 浙江省丽水市人民医院, 温州医学院附属第六医院消化内科 浙江省丽水市 323000

尚惺杰, 副主任医师, 主要从事消化内科的相关工作。

作者贡献分布: 本文由尚惺杰独立完成。

通讯作者: 尚惺杰, 副主任医师, 323000, 浙江省丽水市大众街15号, 浙江省丽水市人民医院, 温州医学院附属第六医院消化内科。sxj1366@sina.com

收稿日期: 2013-04-04 修回日期: 2013-04-22

接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-08-28

Effect of treatment with compound *Lactobacillus acidophilus* on complements and T lymphocyte subsets in patients with compensated liver cirrhosis

Xing-Jie Shang

Xing-Jie Shang, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xing-Jie Shang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Sixth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, 15 Dazhong Street, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. sxj1366@sina.com

Received: 2013-04-04 Revised: 2013-04-22

Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore the effect of early oral compound *Lactobacillus acidophilus* on complements and T lymphocyte subsets in patients with compensated liver cirrhosis.

METHODS: Sixty-six patients with compensated liver cirrhosis were randomly divided into either a control group or a treatment group. The control group received conventional symptomatic treatment, while the treatment group was treated with compound *Lactobacillus acidophilus* (1.0 g, three times per day) for 12 wk on the basis of conventional symptomatic treatment. The changes in serum complements and T lymphocyte subsets between before and after treatment were observed and compared between the two groups of patients.

RESULTS: After treatment, the levels of complements C3 and C4 ($0.97 \text{ g/L} \pm 0.16 \text{ g/L}$ vs $0.85 \text{ g/L} \pm 0.24 \text{ g/L}$, $0.22 \text{ g/L} \pm 0.05 \text{ g/L}$ vs $0.15 \text{ g/L} \pm 0.07 \text{ g/L}$, both $P < 0.05$) and the percentages of CD4^+ and $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ T lymphocyte subsets ($37.9\% \pm 6.5\%$ vs $33.8\% \pm 8.6\%$, $1.6\% \pm 0.5\%$ vs $1.3\% \pm 0.7\%$, both $P < 0.05$) were significantly increased in the treatment group.

CONCLUSION: Oral compound *Lactobacillus acidophilus* can regulate intestinal flora imbalance and modulate immunity in patients with compensated liver cirrhosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Compensated liver cirrhosis; Compound *Lactobacillus acidophilus*; Complement; T lymphocyte subsets

Shang XJ. Effect of treatment with compound *Lactobacillus acidophilus* on complements and T lymphocyte subsets in patients with compensated liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2446-2450 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2446.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2446>

摘要

目的: 探讨口服复方嗜酸乳杆菌治疗早期肝硬化患者对血清补体和外周血T淋巴细胞亚群的影响。

方法: 选择66例早期肝硬化患者, 根据就诊顺序随机分为对照组和治疗组, 对照组予以常规保肝对症治疗, 治疗组在对照组治疗的基础上加服复方嗜酸乳杆菌, 1.0 g/次, 3次/d, 疗程为12 wk。观察两组患者治疗前后血清补体和外周血T淋巴细胞亚群的变化。

结果: 治疗组患者治疗后补体C3、C4水平($0.97 \text{ g/L} \pm 0.16 \text{ g/L}$ 、 $0.22 \text{ g/L} \pm 0.05 \text{ g/L}$)较治疗前($0.85 \text{ g/L} \pm 0.24 \text{ g/L}$ 、 $0.15 \text{ g/L} \pm 0.07 \text{ g/L}$)明显增高($P < 0.05$); 患者外周血T淋巴细胞亚群 CD4^+ ($37.9\% \pm 6.5\%$)、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ ($1.6\% \pm 0.5\%$)较治疗前($33.8\% \pm 8.6\%$)、 CD4^+

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

CD8⁺(1.3%±0.7%)明显增加($P<0.05$).

结论:口服复方嗜酸乳杆菌补充菌群能调节肠道菌群失调,具有一定的免疫调节作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 早期肝硬化; 复方嗜酸乳杆菌; 补体; T淋巴细胞亚群

核心提示: 本文源于临床实践,对于早期肝硬化患者补充胃肠道正常菌群有改善症状及提高免疫功能作用,有一定临床意义.

尚惺杰. 复方嗜酸乳杆菌治疗对早期肝硬化患者补体和T淋巴细胞亚群的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2446-2450
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2446.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2446>

0 引言

肝硬化的患者普遍存在肠道微生态失衡,而且肠微生态失衡程度与肝硬化的严重程度及并发症相关^[1,2].随着对微生态制剂研究的进展,发现微生态制剂具有生物化学屏障作用调节肠道菌群平衡、营养和改善肝脏和肠道功能作用、增强免疫调节作用等^[3].本研究对早期肝硬化患者在常规保肝治疗的基础上辅助应用口服复方嗜酸乳杆菌进行治疗,探讨其对肝硬化患者血清补体和T淋巴细胞免疫功能的影响,现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01/2012-12在我科门诊及住院治疗、并经超声或CT证实的早期病毒性肝炎肝硬化患者66例,所有患者诊断符合2000年全国病毒性肝炎会议制定的肝硬化诊断标准.排除合并感染、肝癌及其他重要器官衰竭的患者或病情恶化发生严重并发症者;在治疗前4 wk均未服用抗生素、微生态调节剂,并排除在治疗中应用广谱抗菌药物者.其中男40例,女26例;年龄32-70岁,平均年龄46.5岁±8.7岁.根据就诊病历号顺序将患者随机分为对照组和治疗组,每组均为33例.两组在年龄、性别构成及肝功能、Child-Pugh分级等方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组给予肝硬化常规治疗:低盐保肝基础对症支持治疗;治疗组在对照组治疗的基础上加服复方嗜酸乳杆菌(由中国株嗜酸乳

杆菌,日本株嗜酸乳杆菌、粪链球菌和枯草杆菌等4种菌粉组成的复方片剂.商品名为益君康,通化金马药业集团股份有限公司,批准文号:国药准字H10940114)1.0 g/次,口服3次/d,疗程均为12 wk.分别在治疗前后进行患者补体和外周血T淋巴细胞亚群的检测.

1.2.2 检测: (1)补体由美国Beckman公司的360型特定蛋白仪自动检测,行速率散射比浊法检测,试剂由美国Beckman公司提供; (2)T淋巴细胞亚群采用美国BD公司的FACSCalibur FCM流式细胞仪检测,试剂由美国BD公司提供,严格按照试剂盒说明书进行操作.

统计学处理 使用SPSS13.0统计软件进行统计学分析,计量资料以mean±SD表示,采用 t 检验, $P<0.05$ 差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗前后补体变化 两组患者治疗前补体比较差异无统计学意义($P>0.05$).治疗组患者治疗后补体C3、C4均较治疗前明显增加($P<0.05$),而对照组患者治疗前后C3、C4无明显变化($P>0.05$).且治疗后治疗组与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 两组患者治疗前后外周血T淋巴细胞亚群的变化 两组患者治疗前CD4⁺、CD8⁺和CD4⁺/CD8⁺比较差异无统计学意义($P>0.05$).治疗组患者治疗后CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺较治疗前明显增加($P<0.05$),而对照组患者治疗前后CD4⁺、CD8⁺和CD4⁺/CD8⁺均无明显变化($P>0.05$),且治疗后治疗组与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)(表2).

3 讨论

肝硬化患者常常死于感染、上消化道出血、肝性脑病、肝肾综合征以及肝功能衰竭等并发症.新近的研究发现,肝硬化的患者普遍存在肠道微生态失衡,主要表现为专性厌氧菌双歧杆菌、类杆菌数量显著减少,而需氧菌革兰氏阴性杆菌数量显著增多,存在肠道革兰氏阴性杆菌过度生长的情况,且认为肠微生态失衡程度与肝病的严重程度相关^[1,2].现普遍认为肠道细菌通过细菌易位等方式在肝硬化并发症的发生发展过程中起着非常重要的作用.细菌易位是肝硬化和高动力循环发生自发性感染的一个主要发病机制,是门脉高压、腹水和肝肾综合征的一个重要影响因素^[4],与较差的预后相关.目

■ 研发前沿

目前肝硬化患者补充肠道菌群平衡能改善肝脏肠道功能作用,能否补充肠道菌群,改善免疫功能是亟待研究的问题.

■相关报道

口服复方嗜酸乳杆菌进行治疗肝硬化, 治疗后补体C3、C4水平增高; 患者外周血T淋巴细胞亚群CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺较前增加, 调节肝硬化患者肠道菌群失调具有一定的免疫调节作用。

表 1 两组患者治疗前后补体C3、C4(g/L)变化 ($n = 33$)

	C3	C4
治疗组		
治疗前	0.85 ± 0.24	0.15 ± 0.07
治疗后	0.97 ± 0.16 ^{ac}	0.22 ± 0.05 ^{ac}
对照组		
治疗前	0.86 ± 0.21	0.16 ± 0.06
治疗后	0.88 ± 0.23	0.17 ± 0.07
治疗组(治疗前后比较) <i>t</i> 值	2.389	4.675
对照组(治疗前后比较) <i>t</i> 值	0.369	0.623
治疗后(治疗组与对照组比较) <i>t</i> 值	1.845	3.339

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 治疗后对照组。

表 2 两组患者治疗前后外周血T淋巴细胞亚群的变化

	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
治疗组			
治疗前	33.8 ± 8.6	24.9 ± 6.7	1.3 ± 0.7
治疗后	37.9 ± 6.5 ^{ac}	25.2 ± 5.5	1.6 ± 0.5 ^{ac}
对照组			
治疗前	34.1 ± 7.3	24.7 ± 7.5	1.4 ± 0.6
治疗后	33.7 ± 8.4	24.9 ± 5.8	1.3 ± 0.8
治疗组(治疗前后比较) <i>t</i> 值	2.185	0.199	2.003
对照组(治疗前后比较) <i>t</i> 值	0.206	0.121	0.623
治疗后(治疗组与对照组比较) <i>t</i> 值	2.272	0.216	1.827

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 治疗后对照组。

前认为, 胃肠道微生物群的变化、肠道屏障功能受损和宿主免疫功能缺陷^[5]以及内毒素血症等因素促进了细菌易位的发生和发展。肝硬化患者免疫功能有一定程度的异常, 主要有网状内皮细胞吞噬活性降低、腹水调理素的活性缺失, 以及中性粒细胞功能障碍等原因。同时肝硬化患者存在不同程度的免疫功能缺失, 具体表现为免疫细胞T、B淋巴细胞数量或者比例的改变^[6-9]。肠道免疫功能可能也有不同程度的损害, 会导致宿主肠道免疫系统不能有效地阻止细菌易位至组织或者肠系膜淋巴结, 宿主促炎症性细胞因子的大量产生, 也能导致炎症反应, 进而导致细菌易位的发生。而肠道正常菌群具有生物屏障作用, 防御病原体的侵犯, 合成维生素K、维生素B₁₂、叶酸、生物素、泛酸和核黄素等多种维生素。因此, 因此积极有效地恢复患者肠道菌群平衡, 减少肠道细菌易位, 补充胃肠益生菌, 恢复正常的肠道菌群对肝硬化的治疗及改善和增强患者的免疫功能具有非常重要的意义。

补体作为非特异性蛋白参与机体的体液免疫反应, 在机体抵抗病原体感染的免疫防御中起重要作用。补体C3是补体激活过程中起关键性作用的一种成分, 不论是经典激活途径还是替代激活途径, 均需在补体C3, 被激活之后, 才能推进后续补体成分的连锁反应。补体C3水平的高低与总补体的含量相平行, 故测定补体C3, 水平可反映血清总补体水平, 其水平是衡量体液免疫的重要指标。补体C3, 主要由肝脏合成, 是抗原-抗体免疫复合物反应中的重要因子。肠道屏障包括机械屏障、生物屏障、化学屏障、和免疫屏障4个部分, 可阻止肠道内数量巨大的肠道细菌及其毒素越过肠黏膜屏障进入正常的肠壁组织、肠系膜淋巴结、门静脉及其他脏器而造成细菌易位。免疫屏障则由浆细胞分泌的sIgA和肠黏膜内的淋巴组织构成。T淋巴细胞是细胞免疫的主要效应细胞, CD4⁺、CD8⁺是其中两个重要功能亚群, 可以反映机体基本细胞免疫状态, CD4⁺/CD8⁺可以在一定程度上反映机体

细胞免疫调节功能。

本课题使用复方嗜酸乳杆菌, 由中国株嗜酸乳杆菌, 日本株嗜酸乳杆菌、粪链球菌和枯草杆菌等4种菌粉组成的复方制剂。乳酸菌是指一类以糖为原料的, 产生乳酸、革兰氏阳性菌, 不形成芽孢, 不运动或极少运动的过氧化氢酶阴性的细菌。在早期肝硬化患者中, 补体C3、C4水平可降低, 考虑与肝细胞受损, 合成功能下降; 长期病程使患者营养不良等; 消耗增多, 机体免疫功能紊乱, 体内形成大量免疫复合物, 促进了补体激活等原因相关。本课题研究结果提示早期肝硬化治疗组患者口服复方嗜酸乳杆菌进行治疗12 wk后, C3、C4均较治疗前明显增加; 患者外周血CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显增加, 提示口服复方嗜酸乳杆菌具有一定的免疫调节作用。其可能机制: 乳酸菌进入胃肠道后, 可持续诱导局部细胞免疫和体液免疫, 能诱导产生多种细胞因子具有减少变态反应、增强胃肠道屏障功能^[10-12]; 乳酸菌在胃肠黏膜表面定植占位, 构成生理屏障的一部分, 增强对外来菌和易位菌的抵抗力; 同时中国株嗜酸乳杆菌和日本株嗜酸乳杆菌两者可直接补充肠道正常的生理菌群, 对肠黏膜细胞有强大黏附作用, 并高于其他类型的乳酸杆菌, 代谢产物有广谱抗菌活性, 对肠黏膜有非特异的免疫刺激作用, 能促进肠黏膜细胞分泌sIgA, 分解糖类产生乳酸及过氧化氢, 抑制肠道致病菌繁殖, 改善肠道菌群失调, 清除腐败菌及毒害产物; 产生消化酶促进消化; 合成维生素B族及维生素K; 启动肠道微生态平衡, 重建生物屏障。同时粪链球菌, 具有调节肠道正常菌群失调和促进生长的作用。枯草杆菌可直接补充正常生理菌群, 抑制致病菌, 促进营养物质的消化、吸收, 抑制肠源性毒素的产生和吸收, 达到调整肠道内菌群失调的目的。粪链球菌和枯草杆菌为需氧菌, 通过夺氧理论消耗肠道内氧气, 形成肠道缺氧环境, 迅速扭转菌群失衡状态, 能够降低肠道内氧化还原电位, 促进肠道厌氧益生菌的增殖, 从而共同作用可调节胃肠道菌群平衡, 改善肠道内环境, 增强机体免疫力和增强消化功能^[13-16]。此外, 补充胃肠道益生菌作为非特异的免疫调节因子, 通过细菌本身或细胞壁成分刺激宿主免疫细胞, 使其激活, 产生促分裂因子, 促进吞噬细胞活力或作为佐剂发挥作用。

总之, 口服复方嗜酸乳杆菌进行治疗调节肝硬化患者肠道菌群失调具有一定的免疫调节作

用, 有待于进一步扩大临床观察病例及适当延长治疗时间等以协助研究观察。

4 参考文献

- 1 Bajaj JS, Saeian K, Christensen KM, Hafeezullah M, Varma RR, Franco J, Pleuss JA, Krakower G, Hoffmann RG, Binion DG. Probiotic yogurt for the treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1707-1715 [PMID: 18691193 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01861.x]
- 2 Foster KJ, Lin S, Turck CJ. Current and emerging strategies for treating hepatic encephalopathy. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2010; 22: 341-350 [PMID: 20691385 DOI: 10.1016/j.ccell.2010.04.007]
- 3 Forsyth CB, Farhadi A, Jakate SM, Tang Y, Shaikh M, Keshavarzian A. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* 2009; 43: 163-172 [PMID: 19251117 DOI: 10.1016/j.alcohol.2008.12.009]
- 4 Chen C, Li L, Wu Z, Chen H, Fu S. Effects of lactitol on intestinal microflora and plasma endotoxin in patients with chronic viral hepatitis. *J Infect* 2007; 54: 98-102 [PMID: 17049992 DOI: 10.1016/j.jinf.2005.11.013]
- 5 Pereg D, Kotliroff A, Gadoth N, Hadary R, Lishner M, Kitay-Cohen Y. Probiotics for patients with compensated liver cirrhosis: a double-blind placebo-controlled study. *Nutrition* 2011; 27: 177-181 [PMID: 20452184 DOI: 10.1016/j.nut.2010.01.006]
- 6 Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol* 2008; 49: 821-830 [PMID: 18674841 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.05.025]
- 7 Ley RE, Peterson DA, Gordon JL. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006; 124: 837-848 [PMID: 16497592 DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.017]
- 8 李兰娟, 熊德鑫, 杨景云. 感染微生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 299
- 9 Lorenzo-Zúñiga V, Bartolí R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V, Gassull MA. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 37: 551-557 [PMID: 12601352 DOI: 10.1053/jhep.2003.50116]
- 10 Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 983-992 [PMID: 18395289 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035]
- 11 Joshi R, Kumar S, Unnikrishnan M, Mukherjee T. Free radical scavenging reactions of sulfasalazine, 5-aminosalicylic acid and sulfapyridine: mechanistic aspects and antioxidant activity. *Free Radic Res* 2005; 39: 1163-1172 [PMID: 16298742 DOI: 10.1080/10715760500177880]
- 12 Duncker SC, Lorentz A, Schroeder B, Breves G, Bischoff SC. Effect of orally administered probiotic *E. coli* strain Nissle 1917 on intestinal mucosal immune cells of healthy young pigs. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 111: 239-250 [PMID: 16530848 DOI: 10.1016/j.vetimm.2006.01.017]

■同行评价

本文从临床角度出发, 观察早期肝硬化患者在常规保肝治疗的基础上辅助应用复方嗜酸乳杆菌对血清补体和T淋巴细胞免疫功能的影响, 有一定临床意义。

- 13 Fan J, Xie Y, Li X, Guo G, Meng Q, Xiu Y, Li T, Feng W, Ma L. The influence of Peyer's patch apoptosis on intestinal mucosal immunity in burned mice. *Burns* 2009; 35: 687-694 [PMID: 19269747 DOI: 10.1016/j.burns.2008.10.013]
- 14 Petersen A, Heegaard PM, Pedersen AL, Andersen JB, Sørensen RB, Frøkiaer H, Lahtinen SJ, Ouwehand AC, Poulsen M, Licht TR. Some putative prebiotics increase the severity of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in mice. *BMC Microbiol* 2009; 9: 245 [PMID: 19948011 DOI: 10.1186/1471-2180-9-245]
- 15 Hanck C, Manigold T, Böcker U, Kurimoto M, Kölbel CB, Singer MV, Rossol S. Gene expression of interleukin 18 in unstimulated peripheral blood mononuclear cells of patients with alcoholic cirrhosis. *Gut* 2001; 49: 106-111 [PMID: 11413118 DOI: 10.1136/gut.49.1.106]
- 16 Fiuza C, Salcedo M, Clemente G, Tellado JM. In vivo neutrophil dysfunction in cirrhotic patients with advanced liver disease. *J Infect Dis* 2000; 182: 526-533 [PMID: 10915084 DOI: 10.1086/315742]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

腹腔镜胆囊摘除术高低气腹压对患者血流动力学的影响

肖庆华, 杨丽, 陈荣萍, 邱卫东

肖庆华, 杨丽, 陈荣萍, 邱卫东, 广东省韶关市第一人民医院
麻醉科 广东省韶关市 512000

肖庆华, 副主任医师, 主要从事临床麻醉、疼痛治疗及危重患者的抢救工作。

作者贡献分布: 此课题研究过程由肖庆华与杨丽共同完成; 数据分析以及论文写作由肖庆华完成; 陈荣萍与邱卫东指导以及审阅文章。

通讯作者: 肖庆华, 副主任医师, 512000, 广东省韶关市东堤南路3号, 广东省韶关市第一人民医院麻醉科。

x13435042879@126.com

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-14 在线出版日期: 2013-08-28

Effect of pneumoperitoneum pressure on hemodynamic parameters in patients undergoing laparoscopic gallbladder excision

Qing-Hua Xiao, Li Yang, Rong-Ping Chen, Wei-Dong Qiu

Qing-Hua Xiao, Li Yang, Rong-Ping Chen, Wei-Dong Qiu, Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Guangdong Province, Shaogua 512000, Guangdong Province, China

Correspondence to: Qing-Hua Xiao, Associate Chief Physician, Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Guangdong Province, 3 Dongdi South Road, Shaogua 512000, Guangdong Province, China. x13435042879@126.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-14 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore the relationship between the pressure of pneumoperitoneum and hemodynamic changes in patients undergoing laparoscopic gallbladder excision.

METHODS: Ninety-six patients who would undergo ASA class II line elective laparoscopic cholecystectomy were randomly and equally divided into two groups: I and II. The pneumoperitoneum pressure was set at 1.45 to 1.74 kPa in group I and at 1.05 to 1.23 kPa in group II. MAP, HR, CO, CI and SVR were recorded before pneumoperitoneum (T0), 5 (T1) and 25 min (T2) after pneumoperitoneum, and 10 min after deflation (T3). Meanwhile, blood platelet count (PLT), hematocrit (Hct), plasma concentrations of fibrinogen (Fib) and D-dimer were recorded

preoperatively, immediately and three days after the operation respectively.

RESULTS: MAP, HR, CO, CI, SVR at T1 and T2 in both groups were significantly higher than that before the operation. The above five parameters were significantly lower in the high pressure group than in the low pressure group at T1 (112.2 mmHg \pm 23.87 mmHg *vs* 89.7 mmHg \pm 18.46 mmHg, 102.6 \pm 18.53 mmHg *vs* 89.9 \pm 9.77 mmHg; 105.6 time/min \pm 15.07 time/min *vs* 77.4 time/min \pm 15.41 time/min, 100.4 time/min \pm 11.41 time/min *vs* 71.6 time/min \pm 10.4 time/min; 7.5 L/min \pm 1.76 L/min *vs* 4.1 L/min \pm 1.25 L/min, 6.3 L/min \pm 1.26 L/min *vs* 4.1 L/min \pm 1.52 L/min; 4.5 (L \cdot min)/m² \pm 0.85 (L \cdot min)/m² *vs* 3.1 (L \cdot min)/m² \pm 0.53 (L \cdot min)/m², 4 (L \cdot min)/m² \pm 0.68 (L \cdot min)/m² *vs* 3.2 (L \cdot min)/m² \pm 0.8 (L \cdot min)/m²; 1422.6 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ \pm 226.3 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ *vs* 1204 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ \pm 131.91 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵, 1434 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ \pm 296.17 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ *vs* 1204.3 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵ \pm 153.5 (dyn \cdot s)/cm⁻⁵, all *P* < 0.05), but showed no significant differences between the two groups at T0 and T3. Postoperative PLT, Hct, plasma levels of Fib and D-dimers were significantly higher than preoperative values, and the increase in these four parameters was more significant in the high pressure group than in the low pressure group.

CONCLUSION: Appropriate pneumoperitoneum conditions can help maintain hemodynamic stability and improve the safety of laparoscopic surgery.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Pneumoperitoneum pressure; Hemodynamics; Safety

Xiao QH, Yang L, Chen RP, Qiu WD. Effect of pneumoperitoneum pressure on hemodynamic parameters in patients undergoing laparoscopic gallbladder excision. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2451-2455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2451.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2451>

摘要

目的: 探究腹腔镜胆囊摘除术中高低气腹压与

■背景资料

腹腔镜手术由于微创、预后快、手术时间短等优点已成为临床上腹部手术的主角,受到医师和患者的一致青睐。但腹腔镜需CO₂创造气腹条件,这在扩大了医师操作空间的同时也使腹内压上升,膈肌上移,易造成心脏功能的改变及血流动力学的变化。

■同行评议者

康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科; 廖家智, 副主任医师, 华中科技大学同济医学院附属同济医院

■研究前沿

手术造成的剧烈血流动力学的波动使心脏前后负荷骤增, 心肌需氧量骤增, 都可能成为心脏缺血缺氧甚至骤停的危险因素。临床管理需对本身就有心脑血管基础疾病, 尤其是老年患者多加关注, 避免心血管意外事故。

患者血流动力学改变的关系。

方法: 96例ASA II级择期行腹腔镜胆囊切除术的患者, 按随机数法分成高压组 and 低压组, 每组各48例。高压组采用的气腹压设定在1.45-1.74 kPa, 低压组患者则设定在1.05-1.23 kPa。记录气腹前(T0)、气腹后5 min(T1)、25 min(T2)和放气后10 min(T3)患者的平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate, HR)、心输血量(cardiac output, CO)、心脏指数(cardiac index, CI)外周血管阻力(systemic vascular resistance, SVR)。同时于入院检查时、术毕、术后3 d 3次抽取静脉血检测血液流变学指标: 血小板计数(platelet count, PLT)、血细胞比容(haematocrit, Hct)、纤维蛋白原浓度(fibrinogen, Fib)、D-二聚体。

结果: T1、T2时(即手术过程)2组患者的MAP、HR、CO、CI、SVR均高于手术前, 且高压组患者上述5项指标均明显高于低压组($112.2 \text{ mmHg} \pm 23.87 \text{ mmHg}$ vs $89.7 \text{ mmHg} \pm 18.46 \text{ mmHg}$, $102.6 \text{ mmHg} \pm 18.53 \text{ mmHg}$ vs $89.9 \text{ mmHg} \pm 9.77 \text{ mmHg}$; $105.6 \text{ 次/min} \pm 15.07 \text{ 次/min}$ vs $77.4 \text{ 次/min} \pm 15.41 \text{ 次/min}$, $100.4 \text{ L/min} \pm 11.41 \text{ L/min}$ vs $71.6 \text{ L/min} \pm 10.4 \text{ L/min}$; $7.5 \text{ L/min} \pm 1.76 \text{ L/min}$ vs $4.1 \text{ L/min} \pm 1.25 \text{ L/min}$, $6.3 \text{ L/min} \pm 1.26 \text{ L/min}$ vs $4.1 \text{ L/min} \pm 1.52 \text{ L/min}$; $4.5(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2 \pm 0.85(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2$ vs $3.1(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2 \pm 0.53(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2$, $4(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2 \pm 0.68(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2$ vs $3.2(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2 \pm 0.8(\text{L} \cdot \text{min})/\text{m}^2$; $1422.6(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5 \pm 226.3(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5$ vs $1204(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5 \pm 131.91(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5$, $1434(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5 \pm 296.17(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5$ vs $1204.3(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5 \pm 153.5(\text{dyn} \cdot \text{s})/\text{cm}^5$; 均 $P < 0.05$), 而T0、T3时高低气压组组间无明显差异。高、低气压的患者手术过程中的PLT、Hct、Fib、D-二聚体均显著升高。其中, 高压手术组的上述4项指标比低压组上升快和大, 具有显著差异($P < 0.05$)。

结论: 合适的气腹条件能够维持患者预后的血流动力学稳定及流体变化稳定, 提高腹腔镜手术的安全。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔镜; 气腹压; 血流动力学; 安全性

核心提示: 本研究提出, 在腹腔镜手术中可以通过相关的心脏及血管检测仪来显示患者血流动力学表现。我们的研究也显示, 手术造成的剧烈血流动力学的波动使心脏前后负荷骤增, 心肌需

氧量骤增, 都可能成为心脏缺血缺氧甚至骤停的危险因素。临床管理需对本身就有心脑血管基础疾病, 尤其是老年患者多加关注, 避免心血管意外事故。

肖庆华, 杨丽, 陈荣萍, 邱卫东. 腹腔镜胆囊摘除术高低气腹压对患者血流动力学的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2451-2455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2451.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2451>

0 引言

近年来腹腔镜手术的广泛应用为传统的外科手术注入了新的活力, 因其具有微创, 术后恢复快等特点受到很多临床医生的青睐, 各医院也逐渐将腹腔镜手术列为常规手术之一。为了扩大操作范围, 腹腔镜手术常需要制造人工气腹使腹内压升高, 由此带来的对心功能的损失以及由此带来的并发症也引起了广泛的关注^[1]。本文将对比在不同气腹压力条件下, 患者预后的各项心功能指标及血液学指标的变化, 探讨这些变化之间的关系及产生这些变化的机制, 以期找到最合适的气腹操作压力, 为提高腹腔镜手术的安全性, 减少并发症和提高痊愈率提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-04/2012-12在本院行腹腔镜胆囊摘除术患者96例, 男44例, 女52例, 年龄29-61岁, 体质量50-80 kg, 均为胆囊炎患者ASA II级, 无严重心肺疾病。随机分为高压组和低压组, 每组各48例, 高压组男20例, 女28例; 低压组男24例, 女24例。纳入标准: 符合腹腔镜胆囊摘除术适应证且能耐受高低气腹不同条件, 患者及家属知情同意。排除标准: 无严重心肺疾病与高血压病史。

1.2 方法

1.2.1 麻醉和手术: 96例患者均行气管插管全身麻醉(麻醉前的麻醉诱导和基础用药均相同)并行腹腔镜胆囊摘除术。从第1次给药到插管的时间为5 min。同时接麻醉机, 设置RR 12-14次/min。手术中以CO₂建立气腹, 使用同一气腹机, 于脐下戳孔建立气腹, 气腹压力分别根据组别而定: 高压组1.45-1.74 kPa, 低压组1.05-1.23 kPa, 手术时间为31.0 min ± 3.6 min。

1.2.2 评价指标: 气腹前(T0)、气腹后5 min(T1)、25 min(T2)和放气后10 min(T3)患者的平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate,

表 1 两组间年龄、体质量、手术时间及术后引流量比较 (mean ± SD)

分组	年龄(岁)	体质量(kg)	手术持续时间(h)	术后人均引流量(mL)
高压组	47.0 ± 4.9	64.1 ± 13.10	29.2 ± 1.23	60.4 ± 13.2
低压组	45.6 ± 5.3	61.4 ± 10.47	31.3 ± 1.15	64.1 ± 11.3
<i>t</i> 值	1.339	1.120	-8.304	-1.456
<i>P</i> 值	0.98	0.104	0.520	0.237

表 2 高低气腹压力的两组患者心脏功能比较 (*n* = 48, mean ± SD)

指标	分组	T0	T1	T2	T3
平均动脉压 (mmHg)	高	95.1 ± 13.36	112.2 ± 23.87 ^a	102.6 ± 18.53 ^a	97.0 ± 5.37
	低	95.0 ± 14.17	89.7 ± 18.46 ^a	89.9 ± 9.77 ^a	98.4 ± 6.28
心率 (次/min)	高	72.0 ± 11.31	105.6 ± 15.07 ^a	100.4 ± 11.41 ^a	80.7 ± 12.33
	低	73.2 ± 10.66	77.4 ± 15.41 ^a	71.6 ± 10.4 ^a	80.8 ± 16.26
心输血量 (L/min)	高	4.7 ± 1.45	7.5 ± 1.76 ^a	6.3 ± 1.26 ^a	5.2 ± 1.62
	低	4.7 ± 1.06	4.1 ± 1.25 ^a	4.1 ± 1.52 ^a	5.0 ± 2.39
心脏指数 [(L · min)/m ²]	高	2.6 ± 0.56	4.5 ± 0.85 ^a	4.0 ± 0.68 ^a	2.5 ± 0.59
	低	2.4 ± 0.58	3.1 ± 0.53 ^a	3.2 ± 0.8 ^a	2.4 ± 0.48
外周血管阻力 [(dyn · s)/cm ⁻⁵]	高	1305.1 ± 276.64	1422.6 ± 226.3 ^a	1434 ± 296.17 ^a	1288.8 ± 263.21
	低	1314.1 ± 154.68	1204 ± 131.91 ^a	1204.3 ± 153.5 ^a	1390.9 ± 227.88

^a*P* < 0.05 vs T0. 高: 高压组; 低: 低压组.

HR)、心输血量(cardiac output, CO)、心脏指数(cardiac index, CI)、外周血管阻力(systemic vascular resistance, SVR). 同时于入院检查时、术毕、术后3 d进行3次抽取静脉血检测血液流变学指标: 血小板计数(platelet count, PLT)、红细胞比容(haematocrit, Hct)、纤维蛋白原浓度(Fibrinogen, Fib)、D-二聚体.

统计学处理 将本组研究涉及数字录入SPSS13.0行数据分析, 计量资料以mean ± SD表示, 行 χ^2 检验, 计数资料行*t*检验, *P* < 0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者间年龄、体质量、手术时间及术后引流量比较 两组患者间年龄、体质量无明显差异, 手术持续时间无明显差异, 术后人均引流量无差异(表1).

2.2 高低气腹压力的两组患者心脏功能比较 高压组患者T1, T2时的MAP、HR, CO, CI, SVR明显高于低压组(*P* < 0.05); T0及T3时高低气压组组间无明显差异(*P* > 0.05, 表2).

2.3 两组患者血液凝血比较 高、低气压的患者手术过程中的PLT、Hct、Fib、D-二聚体均显著升高, 术后的上述4项水平平均比原来的基础水

平降低, 但无显著性差异, 且术后2组患者上述4项水平相比组间无差异. 其中, 高压手术组的上述4项指标比低压组上升快且高, 具有显著差异(*P* < 0.05, 表3).

3 讨论

腹腔镜手术由于微创, 预后快, 手术时间短等优点已成为临床上腹部手术的主角, 受到医师和患者的一致青睐. 但腹腔镜需CO₂创造气腹条件, 这在扩大了医师操作空间的同时也使腹内压上升, 膈肌上移, 易造成心脏功能的改变及血流动力学的变化^[2]. 尤其在患者已经有心肌缺血、心肌梗死等基础疾病的情况下, 采取腹腔镜手术会使患者心脏疾病恶化甚至产生猝死的危险^[3,4].

本实验中选择了全身情况良好的胆囊炎患者, 年龄均在65岁以下, 而且患者大部分无基础性疾病或仅有轻微的基础疾病, 尽量消除了性别、年龄、疾病、手术方式、药物对血流动力学的影响. 每位患者手术过程也在麻醉检测仪下控制相同的麻醉深度, 手术过程的执行者均为同一人且手术时间控制在28-32 min以内. 虽然病例数较少, 但是研究对象控制为单变量且消除了无关变量的影响. 故本研究对手术过程中气腹条件的探讨可以为未来临床

■ 相关报道

文献报道, 儿茶酚胺类激素的上调也是体循环阻力升高的原因之一. 心脏指数(cardiac index)升高可能与CO₂引起的高碳酸血症对心肌细胞的诱导作用有关, 也与腹内压增高后, 心脏泵血的前负荷增大有关.

■应用要点

在腹腔镜手术中可以通过相关的心脏及血管检测仪来显示患者血流动力学表现。

表 3 高低气腹压力的两组患者血液凝血比较 ($n = 48$, mean \pm SD)

指标	分组	入院前	术后	术后第3天
血小板计数 ($1 \times 10^9/L$)	高	216.2 \pm 42.52	294.9 \pm 53.71 ^a	208.6 \pm 64.92
	低	220.9 \pm 48.65	250.2 \pm 58.93 ^{ac}	217.7 \pm 52.68
血细胞比容 (%)	高	42.3 \pm 6.63	57.8 \pm 7.16 ^a	41.3 \pm 6.16
	低	43.0 \pm 5.69	50.9 \pm 7.9 ^{ac}	41.3 \pm 7.25
纤维蛋白原浓度 (g/L)	高	3.0 \pm 0.76	4.2 \pm 0.92 ^a	2.8 \pm 0.78
	低	2.9 \pm 0.69	3.4 \pm 0.85 ^{ac}	2.7 \pm 0.61
D-二聚体 (ng/mL)	高	203.3 \pm 59.89	299.7 \pm 74.09 ^a	195.2 \pm 43.99
	低	210.9 \pm 57.68	286.9 \pm 55.69 ^{ac}	201.6 \pm 46.58

^a $P < 0.05$ vs 入院前; ^c $P < 0.05$ vs 高气压组. 高: 高气压组; 低: 低气压组.

的治疗提供一定帮助.

本研究结果表明: 气腹后两组患者的MAP、HR、CO、SVR、CI均明显升高, 提示气腹的手术条件对心脏的功能有显著影响. 气腹后SVR升高可能是由血管内皮细胞受挤压和神经内分泌系统共同起作用导致的^[5]. 除此外, 据其他文献报道^[6,7], 儿茶酚胺类激素的上调也是体循环阻力升高的原因之一. CI升高可能与CO₂引起的高碳酸血症对心肌细胞的诱导作用有关^[8], 也与腹内压增高后, 心脏泵血的前负荷增大有关^[9]. MAP升高与CO升高则应与体循环阻力升高直接相关. 本研究也显示在放气10 min后各指标与手术前指标无明显差异, 这可能与手术时间短有关, 故未造成不可逆改变, 但不可就此认为腹腔镜的手术风险很小. 因为如果患者有严重的心脏基础疾病, 气腹手术时间一旦稍微过长也可以引起严重后果^[10]. 尤其在本研究中也发现3例年龄在55岁以上的中老年患者(有冠心病等基础疾病)的术后不适感明显.

低气压组患者的上述指标的增高与增快幅度均明显低于高气压组, 提示低气压的气腹条件对患者的心脏功能影响较小. 在手术中高低气压组患者的PTL、Hct、Fib及D-二聚体的浓度均有所升高, 提示手术过程中血液易向凝血状态转变, 这可能与手术暴露血管进行气腹手术有关, 此时, 血液中的凝血系统中的外源凝血途径被激活^[11,12]. 同时, 低气压组的上述两个指标升高的幅度比I组低, 提示低气压的气腹条件有利于减少手术中发生患者广泛血管内凝血等恶性凝血功能障碍的事件的发生同时减少静脉血栓的发生. 术后患者的Fib及D-二聚体水平下降可能与术中输液使患者的血液处于稀释状态有关. Sánchez-Margallo等^[13]的研究成果也与本

研究中观察到的现象相吻合. 对我们临床医师的建议就是, 如果需要在长时间的气腹条件下完成腹腔镜手术, 应对静脉血栓的发生予以高度的重视, 加强患者的预后护理^[14].

本研究发现低气压对心血管的血流动力学影响程度较小, 但是不可盲目为了减少心血管事件的发生率而不断降低气腹的压力. Markar等^[15]的研究对手术时间与心血管事件发生率的关系进行了深入的探讨, 发现时间越长对心血管事件发生越有利, 这与长期暴露腹腔, 引起血管纤凝系统异常有关. 而低气压的气腹条件相对来说不利于手术顺利进行, 手术时间普遍比高压的要长. 故临床治疗时要综合考虑两方面的因素, 才能选择好正确的手术气腹条件.

总之, 在腹腔镜手术中可以通过相关的心脏及血管检测仪来显示患者血流动力学表现. 我们的研究也显示, 手术造成的剧烈血流动力学的波动使心脏前后负荷骤增, 心肌需氧量骤增, 都可能成为心脏缺血缺氧甚至骤停的危险因素. 临床管理需对本身就有心脏基础疾病, 尤其是老年患者多加关注, 避免心血管意外事故.

4 参考文献

- 1 Tarhan OR, Barut I, Ozogul C, Bozkurt S, Baykara B, Bulbul M. Structural deteriorations of the human peritoneum during laparoscopic cholecystectomy. A transmission electron microscopic study. *Surg Endosc* 2013; 27: 2744-2750 [PMID: 23392979 DOI: 10.1007/s00464-013-2801-2]
- 2 申海军, 陈广瑜, 詹建兴. 腹腔镜胆囊切除术气腹压力相关并发症的研究. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 779-781
- 3 宋天豹, 姚健. 免气腹与气腹腹腔镜胆囊切除术的对比研究. *腹腔镜外科杂志* 2010; 15: 489-492
- 4 郝冬, 张锦. 腹腔镜手术不同体位变化对呼吸力学的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 650-653
- 5 Topal A, Celik JB, Tekin A, Yüceaktaş A, Otelcioğlu S. The effects of 3 different intra-abdominal pres-

- 11 胡博, 成广海, 付振刚, 王斌, 高辉, 石景森. 不同气腹压力对腹腔镜胆囊切除术后短期并发症的影响. 中国普通外科杂志 2012; 21: 149-152
- 12 章来长, 王鹏, 刘冲, 郑戈, 尚永健, 赵胤铭. 老年患者单孔免气腹腔镜胆囊切除术41例分析. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2012; 5: 238-240
- 13 Sánchez-Margallo FM, Moyano-Cuevas JL, Latorre R, Maestre J, Correa L, Pagador JB, Sánchez-Peralta LF, Sánchez-Margallo JA, Usón-Gargallo J. Anatomical changes due to pneumoperitoneum analyzed by MRI: an experimental study in pigs. *Surg Radiol Anat* 2011; 33: 389-396 [PMID: 21181160 DOI: 10.1007/s00276-010-0763-9]
- 14 Phillips MS, Marks JM, Roberts K, Tacchino R, Onders R, DeNoto G, Rivas H, Islam A, Soper N, Gecelter G, Rubach E, Paraskeva P, Shah S. Intermediate results of a prospective randomized controlled trial of traditional four-port laparoscopic cholecystectomy versus single-incision laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 2012; 26: 1296-1303 [PMID: 22083331 DOI: 10.1007/s00464-011-2028-z]
- 15 Markar SR, Karthikesalingam A, Thrumurthy S, Muirhead L, Kinross J, Paraskeva P. Single-incision laparoscopic surgery (SILS) vs. conventional multiport cholecystectomy: systematic review and meta-analysis. *Surg Endosc* 2012; 26: 1205-1213 [PMID: 22173546 DOI: 10.1007/s00464-011-2051-0]
- 6 潘裕国, 钱以德, 卫智强. 不同气腹压力对全麻下腹腔镜胆囊切除术病人眼压的影响. 临床和实验医学杂志 2010; 9: 1529-1531
- 7 Jang JW, Lee SS, Park do H, Seo DW, Lee SK, Kim MH. Feasibility and safety of EUS-guided transgastric/transduodenal gallbladder drainage with single-step placement of a modified covered self-expandable metal stent in patients unsuitable for cholecystectomy. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 176-181 [PMID: 21704816 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1120]
- 8 曹春芳, 张凡, 周燕. 比较腹腔镜胆囊切除术气腹压力对老年与年轻患者血流动力学的影响. 临床麻醉学杂志 2012; 28: 1073-1075
- 9 Cockbain AJ. Randomized clinical trial of single-port, minilaparoscopic and conventional laparoscopic cholecystectomy (Br J Surg 2013; 100: 339-349). *Br J Surg* 2013; 100: 349-350 [PMID: 23300072 DOI: 10.1002/bjs.9043]
- 10 Yasir M, Mehta KS, Bandy VH, Aiman A, Masood I, Iqbal B. Evaluation of post operative shoulder tip pain in low pressure versus standard pressure pneumoperitoneum during laparoscopic cholecystectomy. *Surgeon* 2012; 10: 71-74 [PMID: 22385527 DOI: 10.1016/j.surge.2011.02.003]

■同行评价

本文对临床医师具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

重症急性胰腺炎并发多器官功能障碍综合征的独立危险因素及护理对策

王立新, 高建丽, 吴贵凯, 田晓华, 高伟

■背景资料

随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变, 胰腺疾病在全球范围内的发病率呈逐年增高趋势, 以重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)最为凶险, 并发症多, 病死率高, 已经成为严重影响人类生命健康的杀手。SAP发病总数占急性胰腺炎的20%-30%, 其发生发展过程是多种因素共同作用的结果。早期常常由于各种致病因素引起胰蛋白酶大量活化, 进入血液循环, 激活炎症细胞, 释放出大量血管活性物质, 如: 肿瘤坏死因子- α 、白介素-6等, 导致胰腺坏死, 加速病情进展, 引起全身性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。

■同行评议者

刘改芳, 主任医师, 河北医科大学第三医院消化内科; 赵刚, 副教授, 协和医院胰腺病研究所

王立新, 高建丽, 吴贵凯, 高伟, 唐山市工人医院消化科 河北省唐山市 063000

田晓华, 河北省唐山市工人医院重症医学科 河北省唐山市 063000

王立新, 主管护师, 主要从事消化科重症疾病的抢救及护理对策。作者贡献分布: 此课题由王立新、高建丽及吴贵凯设计; 研究过程由王立新、高建丽、吴贵凯、田晓华及高伟操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由高伟提供; 数据分析由王立新、田晓华及高伟完成; 本论文写作由王立新、吴贵凯及高建丽完成。

通讯作者: 王立新, 主管护师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山市工人医院消化科。wanglixin926@126.com

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-08

接受日期: 2013-08-19 在线出版日期: 2013-08-28

Risk factors and nursing strategies for severe acute pancreatitis complicated with multiple organ dysfunction syndrome

Li-Xin Wang, Jian-Li Gao, Gui-Kai Wu, Xiao-Hua Tian, Wei Gao

Li-Xin Wang, Jian-Li Gao, Gui-Kai Wu, Wei Gao, Department of Gastroenterology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Heibei Province, China

Xiao-Hua Tian, Department of ICU, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Heibei Province, China

Correspondence to: Li-Xin Wang, Chief Nurse, Department of Gastroenterology, Tangshan Gongren Hospital, 27 Wenhua Road, Lubei District, Tangshan 063000, Heibei Province, China. wanglixin926@126.com

Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-08

Accepted: 2013-08-19 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore the risk factors and nursing strategies for severe acute pancreatitis (SAP) complicated with multiple organ dysfunction syndrome (MODS).

METHODS: Clinical data for 134 patients with SAP were retrospectively analyzed. Based on the presence of MODS or not, the patients were divided into two groups, those complicated with or without MODS. Risk factors and nursing strategies for SAP with MODS were then analyzed.

RESULTS: Logistic regression analysis demon-

strated that shock, biliary obstruction, hyperlipidemia, hypoxemia, lung infection, pleural effusion, abdominal cavity room partition syndrome and Ranson's score, APACHE II score, and CT score were independent risk factors for SAP complicated with MODS (OR = 1.193, 1.016, 1.004, 1.193, 1.049, 1.055, 1.081, 1.100, 1.027, all $P < 0.05$). Nursing for SAP with MODS should focus on monitoring the patient's vital signs and strengthening the management of respiratory function, renal function, blood coagulation function and intestinal function.

CONCLUSION: Awareness of risk factors for SAP complicated with MODS should be raised to conduct active intervention to improve prognosis. Optimization of nursing management of SAP complicated with MODS can help reduce mortality.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Multiple organ dysfunction syndrome; Risk factors; Nursing

Wang LX, Gao JL, Wu GK, Tian XH, Gao W. Risk factors and nursing strategies for severe acute pancreatitis complicated with multiple organ dysfunction syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2456-2460 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2456.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2456>

摘要

目的: 探讨重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)并发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的危险因素及护理策略。

方法: 收集并分析重症急性胰腺炎患者134例的临床资料, 根据是否并发MODS, 将患者分为2组, 即并发MODS组和无MODS组, 经Logistic回归分析SAP并发MODS的危险因素及2组患者的预后情况, 总结SAP并发MODS患者的护理策略。

结果: 经Logistic回归分析结果, 休克、胆道

梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、腹腔室隔综合征及Ranson评分、APACHE II评分、CT评分的OR值分别为1.193、1.016、1.004、1.007、1.049、1.055、1.081、1.100、1.027, 这些因素均是SAP并发MODS的独立危险因素($P<0.05$)。针对SAP并发MODS患者的护理, 要重点监测患者的生命体征变化, 加强呼吸功能、肾功能、凝血功能、肠功能的护理管理。

结论: 对SAP并发MODS的危险因素要提高警惕性, 积极干预以改善患者的预后, 并加强SAP并发MODS患者的护理管理, 以降低死亡率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 多器官功能障碍综合征; 危险因素; 护理

核心提示: 本研究分析唐山市工人医院近年来收治的134例重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者的临床资料, 探讨SAP并发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome)的危险因素, 为治愈SAP提供有价值的依据和努力方向。

王立新, 高建丽, 吴贵凯, 田晓华, 高伟. 重症急性胰腺炎并发多器官功能障碍综合征的独立危险因素及护理对策. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2456–2460 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2456.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2456>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是指急性胰腺炎伴有器官功能障碍, 或胰腺出现坏死、脓肿或假性囊肿等的局部并发症^[1]。由于SAP起病急骤、病情险恶、并发症多, 病程长, 且缺乏特异有效的治疗方法, 其仍是病死率较高的疾病, 据统计, SAP的病死率达10%-20%^[1]。SAP并发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是导致患者死亡的主要原因, 其病死率超过54%, 临床上应高度警惕SAP患者并发MODS^[2]。有研究证实^[2], MODS的发生与SAP产生大量的炎症介质和细胞因子, 致使机体出现全身性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 进而引发多器官功能损害有关。因此, 本研究收集并分析唐山市工人医院近年来收治的SAP患者134例的临床资料, 探讨SAP并发MODS的危险因素,

为治愈SAP提供有价值的依据和努力方向。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2005-01/2013-01本院消化内科及ICU科收治的SAP患者的134例临床资料, 其中, 男78例, 女56例, 年龄38-76岁, 平均55.9岁±11.6岁; 根据腹部体征、胰酶水平、B超检查、经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP), 计算机X射线断层扫描技术(computed tomography, CT), 磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangio pancreatography, MRCP)等检查手段, 患者诊断符合中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组2004年制定的重症急性胰腺炎的临床诊断标准^[3], 有局部并发症(胰腺坏死、胰腺脓肿、胰腺假性囊肿); 伴有脏器功能衰竭; Ranson标准记分≥3分; CT评分为D、E级或经外科手术证实。MODS诊断依据: 采用序贯器官衰竭估计(sequential organ failure assessment, SOFA)评分方法, 评估SAP肝脏、肾脏、凝血系统、心血管系统、神经系统及呼吸系统等器官功能状态。任一器官功能评分≥2分即诊断为该器官功能障碍, 评分≥3分即诊断为该器官功能衰竭, 2个或以上器官发生功能障碍时定义为MODS。

1.2 方法 根据患者是否并发MODS, 将患者分为2组, 并发MODS组51例(38.06%), 无MODS组83例(61.94%), 并对2组患者的年龄、性别、是否伴有休克、胆管梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、腹腔间室综合征(abdominal compartment syndrome, ACS)及SIRS持续时间、Ranson评分、APACHE II评分、CT评分等因素进行Logistic回归比较分析, 探讨其差异性, 分析2组患者的预后情况。

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计学处理, 计量资料以mean±SD表示, 采用 t 检验; 计数资料采用 χ^2 检验。多因素采用多元Logistic进行危险因素分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SAP患者分组、临床资料及病死率的比较 并发MODS组患者与无MODS组患者的年龄和性别比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 并发MODS组患者的休克、胆道梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、ACS的发生几率明显高于无MODS组, 差异具有显著性统计学意义($P<0.01$)。并发MODS组患者的Ranson评

■ 研究前沿

SAP是指由多种病因引起胰酶激活, 继而导致胰腺局部炎症反应的疾病。由于SAP起病急骤、病情险恶、并发症多, 病程长, 且缺乏有效特异性的治疗方法, 其仍是病死率较高的疾病, 据统计, SAP的病死率达10%-20%。

■相关报道

有研究证实, MODS的发生与SAP产生大量的炎症介质和细胞因子, 致使机体出现SIRS, 进而引发多器官功能损害有关。

表 1 重症急性胰腺炎患者分组、临床资料及病死率比较分析

影响因素	并发MODS组	无MODS组	P值
<i>n</i>	51	83	
年龄(岁)	55.3 ± 11.9	56.1 ± 12.7	>0.05
性别(男/女)	32/19	51/32	>0.05
休克 n (%)	43(84.31)	20(24.10)	<0.01
胆道梗阻 n (%)	24(47.06)	14(16.87)	<0.01
高脂血症 n (%)	15(29.41)	8(9.64)	<0.01
低氧血症 n (%)	48(94.12)	12(14.46)	<0.01
肺部感染 n (%)	46(90.20)	41(49.40)	<0.01
胸腔积液 n (%)	27(52.94)	10(12.05)	<0.01
腹腔室隔综合征 n (%)	32(62.75)	15(18.07)	<0.01
Ranson评分	4.85 ± 1.93	3.22 ± 1.30	<0.05
APACHE II评分	14.39 ± 5.68	8.15 ± 3.41	<0.05
胰腺病变程度CT分级评分	5.47 ± 0.98	3.78 ± 0.76	<0.05
SIRS持续时间(d)	12.30 ± 4.90	6.80 ± 3.50	<0.05
病死率 n (%)	27(52.94)	24(28.92)	<0.05

分、APACHE II评分、胰腺病变程度CT分级评分明显高于无MODS组, 差异具有显著性统计学意义($P < 0.05$)。并发MODS组患者的病死率为52.94%, 明显高于无MODS组患者病死率, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

2.2 SAP并发MODS的独立危险因素分析 经Logistic回归分析, 休克、胆道梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、ACS及Ranson评分、APACHE II评分、CT评分均是SAP并发MODS的独立危险因素(表2)。

2.3 SAP并发MODS组患者的综合治疗 SAP并发MODS组患者入院后即行重症监护, 早期综合治疗的目标是纠正低氧血症, 减少器官功能损害。首先, 给予患者禁食、禁水、持续胃肠减压, 及时补液, 纠正水电解质和酸碱平衡紊乱, 保持血容量恒定, 必要时补充血浆、白蛋白或全血, 应用生长抑素制剂和足量的胰酶抑制剂^[4]。应用广谱抗生素预防感染, 使用呼吸机支持和早期连续性血液净化(continuous blood purification, CBP)、连续性肾脏替代治疗(continuous renal replacement therapy, CRRT)等综合治疗措施。

2.4 SAP并发MODS患者的护理策略

2.4.1 严密监测患者的生命体征变化: 首先, 护理人员要密切观察患者的意识状态, 呼吸、血压、瞳孔变化, 以防止胰性脑病的发生。当患者出现异常躁动时, 要加强看护, 妥善固定各种管道, 防止发生意外。还要注意观察患者的皮肤色泽, 体温、皮肤温湿度、心率等指标变化, 监测血气变化和肾功能变化, 防范休克的早期征象。

并注意液体输注时要及时、足量、准确、均衡, 严格记录每小时尿量及24 h出入量。一旦发现以上观察指标出现异常, 提示患者病情变化, 应立即报告医师, 及时给予处理^[5]。

2.4.2 呼吸功能的护理管理: SAP并发MODS患者容易出现呼吸窘迫综合征, 患者主要表现为进行性呼吸困难和低氧血症。护理人员应注意观察患者的呼吸状态, 持续监测患者的血氧饱和度(SPO₂), 当SPO₂ ≤ 0.9时, 应立即进行血气分析, 并给予面罩吸氧; 如患者的低氧血症仍不能得到改善, 应果断进行气管插管, 呼吸机辅助呼吸; 对于呼吸费力, 痰液黏稠不易咳出的患者, 行气管切开, 呼吸机辅助呼吸。还要加强患者的呼吸道管理并保持气道通畅, 在患者病情允许情况下, 协助患者翻身排痰, 过氧雾化吸入稀释痰液, 排痰^[6]。整个过程中, 护理人员都要注意观察患者呼吸深度和频度, 神志和面色状况, 定时抽血做动脉血气分析, 并适当调整氧流量和吸氧方法^[7]。本组资料SAP并发MODS患者中, 17例患者并发ARDS, 患者表现为呼吸急促(35次/min), 呼吸困难, 紫绀, 肺部可闻及干湿鸣, 血气分析显示低氧血症。13例患者经及时气管切开, 呼吸机辅助呼吸, 血氧饱和度恢复正常, 呼吸困难症状得到改善, 4例患者因并发急性肾衰竭死亡。

2.4.3 肾功能的护理管理: SAP尤其是出现过休克的患者, 发生急性肾衰竭的几率较高, 主要表现为无尿和少尿。因此, 护理人员应认真密切观察患者的尿量、肾功能及水电解质变化, 发现肾衰竭迹象, 及时通知医生, 给予罂粟碱肌注改

表 2 重症急性胰腺炎并发多器官功能障碍综合征的独立危险因素分析

影响因素	OR(95%CI)	P值
休克	1.193(1.190-1.231)	0.021
胆道梗阻	1.016(1.009-1.023)	0.004
低氧血症	1.004(1.001-1.007)	0.008
肺部感染	1.007(1.009-1.035)	0.017
胸腔积液	1.049(0.837-1.314)	0.043
腹腔室隔综合征	1.055(0.866-1.058)	0.031
Ranson评分	1.081(0.902-1.068)	0.002
APACHEII评分	1.100(1.024-1.160)	0.003
胰腺病变程度CT分级评分	1.027(1.006-1.038)	0.006

■应用要点

本组资料通过进行Logistic回归分析发现, 休克、胆道梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、腹腔室隔综合征及Ranson评分、APACHE II评分、CT评分的P值均小于0.05, 这些因素均是SAP并发MODS的独立危险因素。

善肾脏的血液循环^[8]。对经过补液和对症处理, 仍不能有效改善症状患者, 则应给予利尿限制液体出入量, 准确记录患者的每小时尿量, 尿比重及24 h出入量^[9]。本组资料的SAP并发MODS中, 25例患者并发急性肾衰竭, 患者均表现出Bun>7.14 mmol/L, Cr>133 μmol/L, 小便量极少或无尿。19例患者经补液利尿治疗后, 肾功能恢复, 尿量正常。6例患者经血液透析治疗后, 肾功能未能恢复, 最终死亡。

2.4.4 凝血功能的护理管理: 密切观察患者有无出血迹象, 如: 皮肤淤血和腹腔内出血, 如有异常, 立即进行凝血功能系统检查, 并遵医嘱给予止血处理^[10]。本组资料的SAP并发MODS患者中, 有8例患者出现上消化道出血, 均为胃肠减压引出咖啡样液体, 潜血反应均呈强阳性, 且解黑大便多次。虽然经过积极的止血处理, 仍有6例患者死亡。

2.4.5 肠功能的护理管理: SAP并发MODS患者容易出现肠功能障碍, 甚至可能加重神经、呼吸、循环及肾脏等重要脏器的损伤, 因此, 护理时要注意观察患者的腹痛、腹胀情况, 测腹围、腹压的大小, 一旦患者出现明显的腹痛加剧, 腹胀、高热等情况, 应立即报告医生及时给予处理。要给予患者禁食、胃肠减压, 插胃管时要注意动作轻柔, 保证有效的胃肠减压, 使胰腺得到良好的休息。此过程中, 要选择合理有效的营养支持疗法, 如全胃肠外营养治疗和留置空肠营养管行肠内营养治疗。全胃肠外营养治疗期间, 护理人员要保证营养物质的准确输入, 输注过程要保持无菌操作, 及时监测血糖情况, 严密观察病情变化。肠内营养治疗期间, 要注意掌握营养液的温度、浓度、速度, 密切观察患者有无恶心、腹胀、腹泻等情况, 如有异常, 可减慢输注速度或降低营养液浓度, 必要时监测血糖、电解质变化, 为治疗提供相应信息。

2.4.6 SAP并发MODS的独立危险因素护理干预:

对于SAP并发休克的患者, 要及时纠正, 应重视液体复苏与纠正内环境紊乱、纠正低氧血症等基础护理; 对于SAP并发胆道梗阻的患者, 要尽量避免剖腹手术而采取损伤较小的ERCP和EST介入方法, 从而减少MODS的发生; 对于SAP并发高脂血症患者, 要给予快速降脂; 对于SAP并发低氧血症, 要及时纠正, 提高动脉氧分压, 在无创通气短期内效果不明显时要及时改为有创机械通气, 还要预防呼吸机相关性肺部感染, 以避免SAP进一步发展为MODS。

3 讨论

随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变, 胰腺疾病在全球范围内的发病率呈逐年增高趋势, 以SAP最为凶险, 并发症多, 病死率高, 已经成为严重影响人类生命健康的杀手。SAP发病总数占急性胰腺炎的20%-30%^[11], 其发生发展过程是多种因素共同作用的结果。早期常常由于各种致病因素引起胰蛋白酶大量活化, 进入血液循环, 激活炎症细胞, 释放出大量血管活性物质, 如: 肿瘤坏死因子-α、白介素-6等, 导致胰腺坏死, 加速病情进展, 引起SIRS和MODS。由此证明, 多种炎症介质和细胞因子参与了SAP的发展过程, 因此, 通过早期连续性血液净化治疗, 非选择性清除多种促炎因子, 有可能防止MODS的发生从而改善SAP患者的预后。由于MODS是SAP主要的死亡原因。因此, 在SAP发病早期, 防治SIRS和MODS是临床治疗的重点, 直接关系到患者的预后^[12]。

对SAP患者实施早期管理, 通过采取相应的干预措施, 如: 持续胃肠减压, 加强肠外营养支持, 选择性应用敏感抗生素控制感染, 纠正休克及心肾功能衰竭, 改善胰腺微循环, 遏止胰酶

■同行评价

本研究有一定的可读性,对基层医院临床医师及护士有一定帮助。

被激活;控制胰腺自身消化,避免全身性炎症反应;可以中断或逆转多器官功能障碍综合征的病理变化,降低SAP患者并发MODS所造成的高死亡率。有研究指出,Ranson评分、APACHE II评分、CT评分系统对SAP严重程度及预后的评价意义极大,尤其是APACHE II评分在预测器官衰竭方面具有明显的优越性,而CT评分则在预测胰腺坏死方面有较大优势^[13]。而本组资料通过进行Logistic回归分析发现,休克、胆道梗阻、高脂血症、低氧血症、肺部感染、胸腔积液、腹腔室隔综合征及Ranson评分、APACHE II评分、CT评分的 P 值均小于0.05,这些因素均是SAP并发MODS的独立危险因素。

这与以往研究相似,因此,对于这些危险因素必须提高警惕性,积极干预以改善患者的预后^[14]。对于SAP并发休克的患者,要及时纠正,应重视液体复苏与纠正内环境紊乱、纠正低氧血症等基础护理;对于SAP并发胆道梗阻的患者,要尽量避免剖腹手术而采取损伤较小的ERCP和EST介入方法,从而减少MODS的发生;对于SAP并发高脂血症患者,要给予快速降脂^[15];对于SAP并发低氧血症,要及时纠正,在无创通气短期内效果不明显时要及时改为有创机械通气,还要预防呼吸机相关性肺部感染,以避免SAP进一步发展为MODS^[16]。针对SAP并发MODS患者的护理,要注意严密监测患者的生命体征变化,加强呼吸功能、肾功能、凝血功能、肠功能的护理管理,还要注意观察患者的腹痛、腹胀情况,测腹围、腹压的大小,饮食护理如:禁食、胃肠减压,肠外营养支持及肠内营养支持及心理护理等。总之,分析这些SAP并发MODS的独立危险因素的目的在于最大程度提高警惕性,积极预防MODS的发生,改善患者的预后,还要加强SAP并发MODS患者的护理管理,以降低死亡率。

4 参考文献

- 1 Mayerle J, Simon P, Lerch MM. Medical treatment of acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2004; 33: 855-869, viii [PMID: 15528022 DOI: 10.1016/j.gtc.2004.07.012]
- 2 Zhang XP, Zhang J, Song QL, Chen HQ. Mechanism of acute pancreatitis complicated with injury of intestinal mucosa barrier. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007; 8: 888-895

[PMID: 18257123 DOI: 10.1631/jzus.2007.B0888]

- 3 卢世云, 潘秀珍. 重症急性胰腺炎发病机制研究现状. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2421-2425
- 4 张刚, 张肇达, 刘续宝, 田伯乐, 胡伟明, 蒋俊明. 急性胰腺炎大鼠肺内TNF- α 基因表达与肺损伤的关系. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 142
- 5 Hisakura K, Murata S, Fukunaga K, Myronovych A, Tadano S, Kawasaki T, Kohno K, Ikeda O, Pak S, Ikeda N, Nakano Y, Matsuo R, Konno K, Kobayashi E, Saito T, Yasue H, Ohkohchi N. Platelets prevent acute liver damage after extended hepatectomy in pigs. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 855-864 [PMID: 20734209 DOI: 10.1007/s00534-010-0276-2]
- 6 Ronco C, Belomo R, Homel P, Brendolan A, Dan M, Piccinni P, La Greca G. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial. *EDTNA ERCA J* 2002; Suppl 2: 7-12 [PMID: 12371727 DOI: 10.1111/j.1755-6686.2002.tb00248.x]
- 7 Smith NL, Freebairn RC, Park MA, Wallis SC, Roberts JA, Lipman J. Therapeutic drug monitoring when using cefepime in continuous renal replacement therapy: seizures associated with cefepime. *Crit Care Resusc* 2012; 14: 312-315 [PMID: 23230881]
- 8 Joannidis M. Continuous renal replacement therapy in sepsis and multisystem organ failure. *Semin Dial* 2009; 22: 160-164 [PMID: 19426421 DOI: 10.1111/j.1525-139X.2008.00552.x]
- 9 Richter E, Denecke A, Klapdor S, Klapdor R. Parenteral nutrition support for patients with pancreatic cancer--improvement of the nutritional status and the therapeutic outcome. *Anticancer Res* 2012; 32: 2111-2118 [PMID: 22593497]
- 10 De Waele JJ, Leppäniemi AK. Intra-abdominal hypertension in acute pancreatitis. *World J Surg* 2009; 33: 1128-1133 [PMID: 19350318 DOI: 10.1007/s00268-009-9994-5]
- 11 赵晓晏, 夏时海. 血小板活化因子与急性胰腺炎的发生和治疗. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 958-960
- 12 周俊杰, 罗琼湘, 章雄军, 徐小强. 早期连续性血液净化治疗重症急性胰腺炎14例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 800-803
- 13 Tenner S, Banks PA. Acute pancreatitis: nonsurgical management. *World J Surg* 1997; 21: 143-148 [PMID: 8995069 DOI: 10.1007/s002689900206]
- 14 Giamarellos-Bourboulis EJ, Nikou GC, Matsaggoura M, Toumpanakis C, Grecka P, Giannikopoulos G, Katsilambros N. Alterations of systemic endotoxemia over the course of acute edematous pancreatitis. correlation to the advent of an infection? *Pancreatol* 2003; 3: 323-328 [PMID: 12890995 DOI: 10.1159/000071771]
- 15 Werdan K, Schmidt H, Ebel H, Zorn-Pauly K, Koidl B, Hoke RS, Heinroth K, Müller-Werdan U. Impaired regulation of cardiac function in sepsis, SIRS, and MODS. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87: 266-274 [PMID: 19370080 DOI: 10.1139/Y09-012]
- 16 Petrov MS. Moving beyond the 'pancreatic rest' in severe and critical acute pancreatitis. *Crit Care* 2013; 17: 161 [PMID: 23837725 DOI: 10.1186/cc12770]

编辑 田滢 电编 闫晋利



老年患者胃肠手术快速康复的外科护理

何颖, 王艳荣, 党玲

何颖, 王艳荣, 党玲, 宁夏医科大学护理学院 宁夏回族自治区银川市 750004

何颖, 讲师, 主要从事社区老年慢性病的研究。

作者贡献分布: 此论文由何颖设计; 研究过程由何颖实施完成; 数据分析与病理支持由何颖、王艳荣及党玲完成; 本论文写作由何颖、王艳荣及党玲共同完成。

通讯作者: 何颖, 讲师, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区1160号, 宁夏医科大学护理学院。heyng_nx@163.com

收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-09

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-28

Safety of fast-track gastrointestinal surgery in elderly patients

Ying He, Yan-Rong Wang, Ling Dang

Ying He, Yan-Rong Wang, Ling Dang, College of Nursing, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Ying He, Lecturer, College of Nursing, Ningxia Medical University, 1160 Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. heyng_nx@163.com

Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-09

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To evaluate the safety of fast-track gastrointestinal surgery in elderly patients and explore the principle of individualization.

METHODS: Three hundred and sixty patients who underwent gastrointestinal surgery from January 2009 to January 2012 at our hospital were included in this study, of whom 180 received fast-track surgery and 180 underwent traditional surgery. The incidence and severity of complications were compared between the two groups of patients.

RESULTS: The incidences of individual complications and overall complications were lower in the fast-track surgery group than in the control group, but the differences were not significant. The incidence of gastrointestinal fistula had a gradually increasing trend in the fast-track surgery group. The incidence of general complications was significantly lower in the observation than in the control group (6.67% vs 13.33%, $P <$

0.05). The incidence of other complications was also significantly lower in the fast-track surgery group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Fast-track surgery can effectively reduce the incidence of gastrointestinal complications; however, improper care may increase the incidence of gastrointestinal fistula.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fast-track surgery; Gastrointestinal surgery; Safety; Individualized

He Y, Wang YR, Dang L. Safety of fast-track gastrointestinal surgery in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2461-2465 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2461.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2461>

摘要

目的: 研究快速康复外科应用于胃肠手术的个性化原则及安全性评估。

方法: 选择2009-01/2012-1于宁夏医科大学护理学院进行治疗的进行了胃肠手术患者360例。其中, 采用快速康复外科对进行治疗的患者有180例, 采用传统方式进行治疗的患者有180例, 对比两组患者的并发症发生情况以及严重程度, 并且对两组患者总体并发症发生率的差异进行统计。

结果: 研究发现, 快速康复外科患者的一般并发症及总体并发症要低于对照组, 两组并发症的发生率无显著差异。快速康复组患者的消化道瘘的发生率有逐年上升的趋势。并发症比较上, 观察组一般并发症的发生例数为12例, 发生率为6.67%, 对照组一般并发症的发生率例数是24例, 发生率为13.33%。其他并发症观察组发生率也显著低于对照组, 两组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 快速康复外科可以有效的降低患者胃肠手术后的并发症发生率, 凡是若操作不当也会增加患者消化道瘘的发生率, 因而, 快速康复外科在临床中的应用要符合患者个体特性。

■背景资料

近年来, 临床肠胃外科手术老年患者的比例在逐步加大。因老年患者术后长期卧床, 造成糖尿病、静脉血栓等并发症的几率也在加大, 缩短老年患者术后康复时间已是当务之急, 本文就老年患者快速康复外科护理的方法进行了一些有益探索。

■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

■研究前沿

根据患者围手术期病理生理变化,有针对性地对患者施行一系列术前、术中及术后综合管理措施,进而能够缩短术前诊治时间,提高诊治效率,减少手术创伤,减少术中、术后并发症,缩短住院时间和康复时间。该方法要求患者身体素质较高,如何在体质较弱的老年患者中应用,是亟待解决的问题。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 快速康复外科; 胃肠手术; 安全性; 个体化

核心提示: 本研究提倡微创手段的结合,同时要注意: (1)限制患者术后补液量,可降低术后并发症的发生率; (2)提倡早期经口进食有利于肠功能的恢复; (3)采用多模式术后止痛方法提高镇痛效果; (4)尽快拔除尿管减少并发症的发生; (5)尽早开始功能锻炼促进患者康复; (6)制定统一出院标准有助于缩短住院时间。

何颖, 王艳荣, 党玲. 老年患者胃肠手术快速康复的外科护理. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2461-2465 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2461.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2461>

0 引言

快速康复外科由于显著加快了患者术后康复的进程,并有效地改善了患者的预后,在近年来受到了国内外学者的推崇,因而也逐渐从直肠外科扩展到了消化系手术的各个领域,其有效性及安全性受到了国内外文献的一致肯定。快速康复外科最早是在20世纪90年代提出的,是患者卧床护理理念的一个进一步的延伸^[1]。这是一种全新的,以患者为目标的,能够较好的做好患者精神、体质等多方面考量,减少患者在治疗中会出现各种不适的一种疗法。快速康复外科是根据患者在围手术期的生理特点,进而制定的一系列的管理措施,以求使患者能够减少手术并发症,减少术中创伤,提高患者诊治效率,缩短住院时间^[2]。研究发现,近年来,该种模式已逐步开始向减少住院时间,降低治疗侵入性的方向发展,并且在多个领域的护理中得到了广泛的应用,其中,快速康复外科在胃肠手术中的应用效果较为显著,但是快速康复外科的应用中也存在不同程度的问题,因而本文主要就胃肠手术的安全性进行评估与讨论。

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究所选择的对象为360例进行了胃肠手术的患者,其年龄跨度在51-76岁之间,平均年龄为62岁,其中男192例,女168例。其中,按照快速康复外科计划进行治疗的观察组患者有180例,按传统标准进行治疗的对照组患者有180例。患者入选的标准包括:患者未出现营养不良及器官障碍。由于患者的身体素质、年

龄、营养状况均无太大差异,不对该研究造成大的影响,因而两组病例具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 护理: 采用快速康复外科进行治疗的观察组患者采用之前研究所述的Wind等提出的结肠处理方法进行处理。而采用传统方式进行治疗对照组患者则采用传统的围手术期处理方式进行处理^[3]。快速康复外科是根据患者围手术期病理生理变化,有针对性地对患者施行一系列术前、术中及术后综合管理措施,进而能够缩短术前诊治时间,提高诊治效率,减少手术创伤,减少术中、术后并发症,缩短住院时间和康复时间^[4]。快速康复外科主要通过多模式术前健康指导改善术后疗效,大大缩短患者术前禁食禁饮时间,取缔以往传统的肠道准备,减少胃管安置几率及留置的时间,采用胸段硬膜外镇痛,无需麻醉前用药等方式对患者进行护理^[5]。(1)术前准备: 观察组患者采用多模式一对一的术前健康指导,而对照组患者采用常规的术前心理护理干预。手术会对患者产生不良刺激,因而患者在手术前大多会出现焦虑、恐惧的心理,但是过度的焦虑、恐惧对患者的手术会出现排斥作用,进而影响患者手术前的身体表现,快速康复外科可以对患者术前的健康状况进行指导,医护人员将患者、家属作为对象,采用视频观看、书面描述、口头讲解等方式对手术的完整过程既重要细节进行讲解,之后由医护人员、麻醉师采取措施,以实现快速康复外科的细节目标。研究发现,术前详细的指导可以有效缓解患者疼痛、焦虑的情况,促进患者的术后恢复^[6,7]。术前禁食禁饮: 由于担心患者在麻醉后会出现呕吐,进而导致其出现吸入性肺炎,因而对照组要求患者术前12 h禁食,4 h禁饮,但是手术前长时间的禁食会导致患者胰岛素抵抗,患者主观感受也会下降,进而导致患者出现类似糖尿病的高糖反应,不利于患者术后恢复。观察组患者根据美国麻醉师协会在1999年重新修订的手术前禁食指南规定,患者在手术前6 h可以进食固态食物,在手术前2 h可以进食含少量糖及不含酒精的透明液体,还有部分研究显示,可以将碳水化合物、糖水作为患者手术前的重要选择。在王梅等的对比研究中可以发现,缩短患者手术前禁食禁饮时间,患者在术后饥饿、口渴、低血糖的发生率会大幅降低,但是患者胃液量、误吸、呕吐的发生率并无差异,因而术前禁食禁饮时间的缩短对患者有重要意义^[8]。肠

道准备: 对照组患者采用传统的肠道准备. 因为在传统观念中, 大多认为患者在手术前必须进行相应肠道的准备, 在患者大肠完全排空前, 需要减少肠道的细菌数量, 进而使手术能够更好的处于无菌的环境中. 由于传统的方法患者痛苦大, 手术时间长, 因而增加了患者血压波动的幅度, 也增加了患者的静脉输血量, 减少了患者大肠杆菌的数量, 其他微生物包括致病菌的数量未发生较大的变化. 由于国内学者在肠道准备的随机对照研究中发现, 没有进程肠道准备的患者肠壁组织脆弱性减弱、肠壁水肿更轻、术中出血更低、肠道质量更好, 因此术前肠道准备不再作为常规的准备措施^[9]. 因而对观察组患者的护理中不再需要进行肠道准备; (2) 术中处理: 手术间温度适宜, 麻醉方式一般为气管插管全麻或硬膜外复合麻醉. 医生根据不同腹部疾病情况完成手术, 尽量采用微创治疗. 常规组: 术中患者补液不加热, 术毕常规放置引流管; 实验组患者术中输液用加热器加热, 且保持患者正常体温及不受凉. 用加温水冲洗腹腔, 根据需要放置引流管. 胃管安置几率及留置的时间: 对照组患者还是采用长时间的胃管安置方法以帮助其进食. 但是由于常规的胃管的安置会对患者的咽部、鼻腔产生较大刺激, 还会增加患者肺炎的发生率, 延误患者进食的时间, 因而会引发患者是肺部并发症. 在对比研究中可以发现, 未安置胃管的患者首次排便、进食、住院时间均较短. 观察组除非患者在手术后出现严重的难治性呕吐、腹胀的情况, 或者其他一些特殊的手术, 一般情况下, 均不再安置胃管, 即使是麻醉需要, 也应尽量在患者麻醉清醒前拔除. 胸段硬膜外镇痛: 对照组患者需要进行麻醉用药. 观察组患者无需麻醉前用药. 为了减少患者是术前焦虑, 因而在麻醉前口服及静脉使用麻醉药物, 都会增加患者术后的镇静效应, 因而对患者的胃排空有明显的抑制作用. 由于硬膜外麻醉师局域性麻醉, 因而可以阻断患者肾上腺交感神经的输入输出. 患者在手术前后可以通过硬膜外导管向其体内注入适当的药物, 由此可以达到较好的麻醉效果. 由于胸段硬膜外麻醉阻滞了交感神经对肠道血管的作用, 因此大大增加了患者黏膜的血流量, 但是不会增加吻合口愈合不良的发生率; (3) 术后处理: 常规组患者术后一般行镇痛 2 d, 术后 1 d 后开始床上活动, 术后待各种管道拔出后开始床下活动, 患者出现肠鸣音后开始进水及少量流质饮食, 术后

根据身体需要量补给液体, 但液体不用加热. 实验组: 术后应保持镇痛良好, 数小时后取半卧位或坐位, 进行床上肢体活动, 协助翻身, 鼓励有效咳嗽咳痰, 尽早拔出各种管道. 术后 1 d 后搀扶床下活动, 术后 12 h 后可少许进水, 48 h 后给予流质饮食; (4) 快速康复外科术中流程的优化: 对照组患者在治疗前后采用常规的心理护理及生理指标观察. 观察组则更注重术中保暖. 由于治疗在前期对汉字的术中保暖不够重视, 但是快速康复外科认为患者在低温环境及术后的复温中会导致患者产生应激反应, 导致患者凝血功能的异常, 因而不利于患者术后的恢复. 患者术中的正常体温指机体中心温度 $>35^{\circ}\text{C}$, 为了达到该温度, 可以提高患者手术室温度, 对于输入的液体也可以适当进行加热. 对于患者还应做好术前、术后的保温, 以减少患者术中的出血及术后感染的情况, 减少患者心脏病等并发症发生率^[10].

1.2.2 观察指标: 血生化的指标主要是通过记录血浆蛋白、总胆红素、白蛋白、并氨基酸转移酶等的含量的变化来对患者的病情进行判断. 其中, 术后感染性并发症要参考患者术后肺部感染、泌尿道感染等的情况来加以判断. 患者在治疗后, 将下肢静脉血栓形成、早期炎症性肠梗阻、肺部感染、消化道瘘等视为严重的并发症, 将切口疼痛、泌尿系感染、切口感染、腹胀、呕吐、恶心等视为一般的并发症^[4].

统计学处理 统计学软件采用 SPSS13.0, 计量资料行 t 检验, 计数资料行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

快速康复外科患者的一般并发症及总体并发症低于对照组, 两组并发症的发生率无显著差异. 血浆蛋白观察组术后 3 d ($57.4 \text{ g/L} \pm 7.3 \text{ g/L}$)、7 d ($68.8 \text{ g/L} \pm 5.3 \text{ g/L}$) 与对照组术后 3 d ($60.2 \text{ g/L} \pm 7.1 \text{ g/L}$)、7 d ($68.2 \text{ g/L} \pm 5.8 \text{ g/L}$) 相比无显著差异, 血清白蛋白 (albumin, Alb) 水平两组相比差异有显著差异, 差异具有统计学意义 (表 1). 观察组一般并发症为 12 例, 显著低于对照组 24 例, 两组比较差异具有统计学意义 (表 2). 两组患者护理前及护理后 3、7 d, 在总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、直接胆红素 (direct bilirubin, DBIL)、丙氨酸转氨酶、谷草转氨酶等方面具有显著差异, 观察组护理后肝功能水平显著高于护理前 (表 3).

■ 相关报道

研究报道, 近几年来, 随着人们生活质量的逐步提高, 全民健身运动的深入开展, 我国老年人身体素质也在大幅度提高, 老年患者外科手术快速康复的临床应用更加广泛, 对应护理工作也在不断改进完善.

■同行评价

本文针对老年肠胃手术患者进行不同护理方法的分组研究,发现肠胃手术快速康复护理疗效确切,值得临床推广,具有一定的临床实用价值。

表 1 两组患者手术前后蛋白水平的变化 (g/L)

分组	总蛋白			血清白蛋白		
	术前	术后3 d	术后7 d	术前	术后3 d	术后7 d
观察组	69.2 ± 6.4	57.4 ± 7.3	68.8 ± 5.3	38.7 ± 5.2	29.3 ± 4.1	36.2 ± 3.6
对照组	71.3 ± 6.1	60.2 ± 7.1	68.2 ± 5.8	68.1 ± 5.7	31.1 ± 4.3	36.8 ± 3.1

表 2 两组患者术后并发症的比较 (n = 180)

分组	一般并发症	胃残余端瘘	十二指肠残余端瘘	直结肠吻合瘘	肺部感染	早期炎症性肠梗阻	下肢静脉血栓
观察组	12	2	1	1	0	1	0
对照组	24	0	0	1	2	0	1

表 3 两组患者护理前后肝功能指标变化

项目	总胆红素(μmol/L)	直接胆红素(μmol/L)	丙氨酸转氨酶(U/L)	谷草转氨酶(U/L)
术前				
观察组	212.2 ± 73.2	177.4 ± 73.1	228.2 ± 115.3	137.1 ± 68.3
对照组	222.9 ± 94.1	183.3 ± 87.2	230.9 ± 135.2	125.4 ± 56.3
术后3 d				
观察组	148.2 ± 44.5	116.5 ± 36.5	177.4 ± 83.3	76.6 ± 35.6
对照组	156.7 ± 48.1	112.9 ± 38.2	187.6 ± 81.2	72.2 ± 32.5
术后7 d				
观察组	72.6 ± 27.2	71.9 ± 28.6	68.4 ± 22.5	85.4 ± 21.2
对照组	75.4 ± 33.6	74.1 ± 32.1	68.5 ± 24.1	81.7 ± 27.9

3 讨论

胃肠手术对于体质较弱,有溃疡病史补偿且年老体弱、心肺功能不全、溃疡穿孔的时间较长患者而言,手术的痛苦较为强烈。并且手术之后患者也容易产生一些并发症^[1]。胃肠疾病在确诊后,患者还应积极地配合治疗,医务人员应尽可能减少患者病情的紧张状况,同时也控制了各种并发症的出现。有休克病史的患者还应进行抗休克的治疗,注重水、电解质以及酸碱的平衡程度^[5]。对于进行了胃肠切除手术的患者,其术后的治疗也是不容忽视的。

由于接受了手术的患者原发病依然存在,并且还伴有蛋白质营养不良等情况,又由于患者的手术操作过程较为复杂,因而患者在手术好机体处于应激状态,其蛋白质的分解速度大于合成的速度,就出现了负氮平衡的状况^[12]。因此,患者在术后需要加大对氮源、热卡的补充,这就加重了患者营养不良的状况。而快速康复外科能够做到: (1)限制患者术后补液量,可降低术后并发症的发生率; (2)提倡早期经口进食有

利于肠功能的恢复; (3)采用多模式术后镇痛方法提高镇痛效果; (4)尽快拔除尿管减少并发症的发生^[13]; (5)尽早开始功能锻炼促进患者康复; (6)制定统一出院标准有助于缩短住院时间。因此,快速康复外科可以有效地降低患者胃肠手术后的并发症发生率,凡是若操作不当也会增加患者消化道瘘的发生率,因而,快速康复外科在临床中的应用要符合患者个体特性^[14]。

提倡微创手段的结合。快速康复外科的微创手术不仅包括小切口、腹腔镜手术等,还包括操作的规范化、手术技术,这样可以减少手术对患者的创伤、应激, C反应蛋白、肿瘤坏死因子α、静息能量消耗、白介素6在反映手术对患者应激方面有很大作用。微创可能会减轻疼痛和炎性细胞因子的炎症反应。有研究表明 FTS可以减少患者的炎症反应,而术后并发症的发生与术后应激存在很大的关联, FTS在一定程度上可以减少术后并发症^[15]。

总之,快速康复外科可以有效地降低患者胃肠手术后的并发症发生率,凡是若操作不当也

会增加患者消化系瘘的发生率, 因而, 快速康复外科在临床中的应用要符合患者个体特性。

4 参考文献

- 姜升立, 葛步军. 快速康复外科在胃肠手术中的新理念及展望. 国际外科学杂志 2010; 37: 624-627
- 姚永良, 保红平, 余风. 快速康复外科理念在胃肠手术后的应用分析. 中国医学创新 2013; 10: 68-69
- 程黎阳, 谢正勇, 戴观荣, 赵为国, 康慧鑫. 快速康复外科应用于胃肠手术的安全性评估及个体化原则. 实用医学杂志 2012; 28: 14-17
- 李立, 汪晓东, 舒晔, 永扬, 王存, 王自强, 王天才, 周总光. 四川大学华西医院肛肠外科·结直肠外科快速流程临床指南. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 413, 493, 581, 671
- 谢立飞, 江志伟, 鲍扬, 王刚, 刘凤涛, 李宁, 黎介寿. 加速康复外科联合腹腔镜应用于结直肠癌手术的临床研究. 临床外科杂志 2011; 19: 232-234
- 刘展, 汪晓东, 李立. 结直肠外科快速流程内容及依据. 中国普外基础与临床杂志 2007; 14: 469-473
- 肖凌, 王浩洋, 余曦, 汪晓东, 李立. 术后限制补液策略对不同体重指数结直肠癌患者的临床效果研究. 中国普外基础与临床杂志 2010; 17: 289-293
- 陈婧华, 陈垦, 王晖. 急性胰腺炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2478-2483
- 周虹, 吕农华. 幽门螺杆菌与消化性溃疡并出血的研究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1063-1066
- 谢雯, 赵红, 成军. S-腺苷蛋氨酸临床研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3553-3558
- Hashimoto D, Ohmuraya M, Hirota M, Yamamoto A, Suyama K, Ida S, Okumura Y, Takahashi E, Kido H, Araki K, Baba H, Mizushima N, Yamamura K. Involvement of autophagy in trypsinogen activation within the pancreatic acinar cells. *J Cell Biol* 2008; 181: 1065-1072 [PMID: 18591426 DOI: 10.1083/jcb.200712156]
- Allen HS, Steiner J, Broussard J, Mansfield C, Williams DA, Jones B. Serum and urine concentrations of trypsinogen-activation peptide as markers for acute pancreatitis in cats. *Can J Vet Res* 2006; 70: 313-316 [PMID: 17042387]
- Sha H, Ma Q, Jha RK. Trypsin is the culprit of multiple organ injury with severe acute pancreatitis. *Med Hypotheses* 2009; 72: 180-182 [PMID: 18938042 DOI: 10.1016/j.mehy.2008.09.007]
- Zwerina J, Hayer S, Redlich K, Bobacz K, Kollias G, Smolen JS, Schett G. Activation of p38 MAPK is a key step in tumor necrosis factor-mediated inflammatory bone destruction. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 463-472 [PMID: 16447221 DOI: 10.1002/art.21626]
- Karrasch T, Steinbrecher KA, Allard B, Baldwin AS, Jobin C. Wound-induced p38MAPK-dependent histone H3 phosphorylation correlates with increased COX-2 expression in enterocytes. *J Cell Physiol* 2006; 207: 809-815 [PMID: 16508963 DOI: 10.1002/jcp.20626]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

肠易激综合征结肠镜检查中灌注CO₂舒适度及安全性评价

艾永华, 陈嘉雯

■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的功能性肠病,在结肠镜检查中,因内脏高度敏感及动力异常,加上肠腔扭曲明显,IBS患者的疼痛敏感性也会增高。而IBS结肠镜检查中有关采用CO₂灌注的国内报道极少。

艾永华, 陈嘉雯, 武汉市东西湖区人民医院消化内科 湖北省武汉市 430040

艾永华, 副主任医师, 主要从事消化内镜介入诊断与治疗的研究。
作者贡献分布: 此课题由艾永华设计; 腹胀、腹痛评估由艾永华完成; 呼吸气末CO₂分压由陈嘉雯测定; 数据分析与论文写作由陈嘉雯与艾永华共同完成。

通讯作者: 艾永华, 副主任医师, 430040, 湖北省武汉市东西湖区环山路81号, 武汉市东西湖区人民医院消化内科。

aiyonghua09@163.com

收稿日期: 2013-04-24 修回日期: 2013-07-18

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Comfort and safety of carbon dioxide-insufflating colonoscopy in patients with irritable bowel syndrome

Yong-Hua Ai, Jia-Wen Chen

Yong-Hua Ai, Jia-Wen Chen, Department of Gastroenterology, Dongxihu District People's Hospital, Wuhan 430040, Hubei Province, China

Correspondence to: Yong-Hua Ai, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongxihu District People's Hospital, 81 Huanshan Road, Dongxihu District, Wuhan 430040, Hubei Province, China. aiyonghua09@163.com

Received: 2013-04-24 Revised: 2013-07-18

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate the comfort and safety of carbon dioxide-insufflating colonoscopy in patients with irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: One hundred and twenty-eight IBS patients were included in this study. One hundred and thirty healthy volunteers who underwent physical examination in the outpatient department in the same period were used as controls. Both IBS patients and healthy controls were randomized into two groups to receive air and CO₂ insufflation, respectively. Patients' symptoms such as distension and pain were scored and compared using a 10-cm visual analog scale (VAS). P_{ET}CO₂ was measured immediately before the examination, when the endoscope reached the cecum, immediately, 5 and 15 min after the examination.

RESULTS: The mean severity of pain before the

examination was higher in the IBS group than in the control group. For patients with IBS, the severity of symptoms was reduced earlier in the CO₂ group. There was no rise in the mean P_{ET}CO₂ during and after colonoscopy in both groups.

CONCLUSION: CO₂ insufflation in colonoscopy is safe and effective for IBS patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Carbon dioxide; Colonoscopy

Ai YH, Chen JW. Comfort and safety of carbon dioxide-insufflating colonoscopy in patients with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2466-2469 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2466.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2466>

摘要

目的: 探讨以CO₂灌注肠易激综合征肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)结肠镜检查的舒适度和安全性。

方法: 选择确诊为肠易激综合征需进行结肠镜检查的住院或门诊患者为观察组对象,以同期门诊健康体检者为对照组;将IBS组及对照组各随机分成两组,进行CO₂/空气灌注行结肠镜检查,即IBS空气灌注组、IBS CO₂灌注组;对照空气灌注组、对照CO₂灌注组。以直观模拟量表(visual analog scale, VAS)评价就诊过程腹胀、腹痛情况,并在检查前、检查结束时、检查结束后5、15 min测定呼吸气末CO₂分压。

结果: 检查前VAS评分,IBS CO₂灌注组及空气灌注组于检查前的不适程度均要高于对照组, $P = 0.009$;肠易激综合征患者中,VAS在同一时间点分值为0分者于两组间的比较,CO₂灌注组比例较大,两组于检查结束后30 min、1、6、24 h时统计比较的 χ^2 值依次为4.607、4.061、6.497、4.411; P 值依次为0.032、0.044、0.011、0.036;且差异均具有统计学

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室

意义($P<0.05$). 在进行肠镜检查过程中两组P_{ET}CO₂平均值均没有比检查前有所增加.

结论: CO₂灌注组在肠易激综合征患者的结肠镜检查中安全有效.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肠易激综合征; 二氧化碳; 结肠镜

核心提示: 对肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者行CO₂及空气灌注对比观察, CO₂组各时间点直观模拟量表分值为0分比例较多; 在检查前后两组P_{ET}CO₂平均值未增加; 这可能是因为结肠镜检查中CO₂流量较小, 机体能很快经呼吸排出代偿, 使CO₂灌注组在IBS患者结肠镜检查中安全有效.

艾永华, 陈嘉雯. 肠易激综合征结肠镜检查中灌注CO₂舒适度及安全性评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2466-2469
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2466.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2466>

0 引言

结肠镜检查是一种筛检大肠癌或癌前病变的有效手段. 然而, 结肠镜检查中因空气灌注出现的腹部疼痛和不适, 使得其成为患者不能接受的原因之一. 在随机对照试验中, 已被证明CO₂灌注可显著减少患者结肠镜检查时的腹部疼痛和不适, 且安全性较好^[1-6]. 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的功能性肠病, 间歇发作或持续存在, 以腹胀、腹痛、大便性状及排便习惯异常为特征, 临床检查需肠镜排除器质性疾病^[7-11], 人群中的患病率为5%-11%^[7], 在亚洲的患病率已由2.9%增至15.6%^[9], 其症状反复, 严重影响患者的生活质量. 而肠易激综合征结肠镜检查中有关采用CO₂灌注的国内报道极少, 因此, 本研究旨在探讨IBS患者与对照组结肠镜检查不适程度的比较, 并评价CO₂灌注用于肠易激综合征检查的舒适度及安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-05/2012-12来东西湖区人民医院结肠镜诊治的患者中, 将符合肠易激综合征罗马III标准^[11]的128例患者作为观察对象, 其中男60例, 女68例; 年龄最小为19岁, 最大为81岁, 平均年龄为54.65岁±6.12岁; 同一医生对所有患者的手术前、中、后临床资料进行

评估. 以同期在我院门诊体检处130例正常健康体检者(男63例, 女67例, 22-78岁, 平均56.75岁±7.42岁)作对照. 排除历史肠道严重粘连、切除, 或孕妇、哺乳期妇女, 精神疾病, 严重心肺脑疾病及已知CO₂潴留等. 将IBS组及对照组各随机分成两组, 双盲研究进行CO₂/空气灌注行结肠镜检查, 即IBS空气灌注组66例(其中腹泻型20例, 便秘型32例, 混合型14例)、IBS CO₂灌注组62例(其中腹泻型20例, 便秘型31例, 混合型11例); 对照空气灌注组65例、对照CO₂灌注组65例.

1.2 方法

1.2.1 结肠镜检查: 患者在检查前一天饮3次×5 mg/次西沙比利和50 g番泻叶水浸液, 流质饮食. 检查前4 h口服1 L 0.9%氯化钠、1 L 5%葡萄糖、0.25 L 20%甘露醇等电解质溶液, 并于检查前0.5 h口服二甲硅油, 以清洁肠道, 所有患者均肌注10 mg丁溴东莨菪碱, 使用奥林巴斯240电子结肠镜进行检查, 并观察相关指标. 所有检查都是由经验丰富的一位内镜医师实行, CO₂设备(奥林巴斯公司协助自制并证实可确保安全使用)及主机均用黑布遮盖, 由专人负责阀门及气泵开关控制, 患者及内镜检查医师都不知气体类型.

1.2.2 观察指标及参考标准: (1)呼气末CO₂分压(P_{ET}CO₂): 在无CO₂弥散障碍和肺内分流情况下, 正常人P_{ET}CO₂ = PaCO₂, P_{ET}CO₂是无创伤性监测动脉血CO₂分压(PaCO₂)的一种方法^[12]. 本研究使用手提式CO₂分析仪分别在检查前、内镜到达盲肠时、检查结束时、检查结束后5、15 min测定呼吸末CO₂分压; (2)腹胀、腹痛评估: 采用10 cm直观模拟量表(visual analog scale, VAS)^[13,14], 由检查者对被观察对象于检查前, 检查结束后30 min、1、6、24 h进行腹胀腹痛程度评估, 由专人负责.

统计学处理 SPSS17.0软件进行数据分析. 计数资料采用 χ^2 检验分析; 计量资料以mean±SD表示, 采用 t 检验分析或 F 检验分析; 非参数检验采用秩和检验; $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 IBS患者与对照组结肠镜检查前不适程度的比较 4组的性别比、平均年龄、进镜时间相当, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 检查前VAS评分, IBS CO₂灌注组及空气灌注组于检查前的不适程度均要高于对照组, 且其差异具有统计学意义

■研究前沿

在随机对照试验中, 已被证明CO₂灌注可显著减少患者结肠镜检查时的腹部疼痛和不适, 且安全性较好.

■相关报道

多因素作用的结果, 其发病机制还未十分清楚, 可能和胃肠动力异常、感染、免疫异常、心理异常及内脏高敏性等因素有关; 刘雄祥等以犬研究证实CO₂介导结肠镜检查的舒适性与安全性.

■ 创新盘点

本研究将CO₂灌注应用于IBS患者,探讨IBS患者与对照组结肠镜检查不适程度的比较,并评价CO₂灌注用于IBS检查的舒适度及安全性。

表 1 肠易激综合征患者与对照组结肠镜检查前不适程度的比较分析 (*n*, mean ± SD)

	IBS		对照		<i>P</i> 值
	空气	CO ₂	空气	CO ₂	
<i>n</i>	66	62	65	65	
性别比(男:女)	30:36	30:32	32:33	31:34	0.977
平均年龄(岁)	54.7 ± 17.6	53.8 ± 18.7	57.3 ± 13.7	55.6 ± 12.6	0.206
进镜时间(min)	12.7 ± 6.6	12.2 ± 6.9	11.7 ± 6.7	11.2 ± 5.7	0.158
检查前VAS评分	0.68 ± 0.79	0.46 ± 0.94	0.08 ± 0.09	0	0.009 ^b

^a*P*<0.01 IBS空气灌注组 vs 对照空气组; ^b*P*<0.01 IBS CO₂灌注组 vs 对照CO₂组. IBS: 肠易激综合征; VAS: 直观模拟量表。

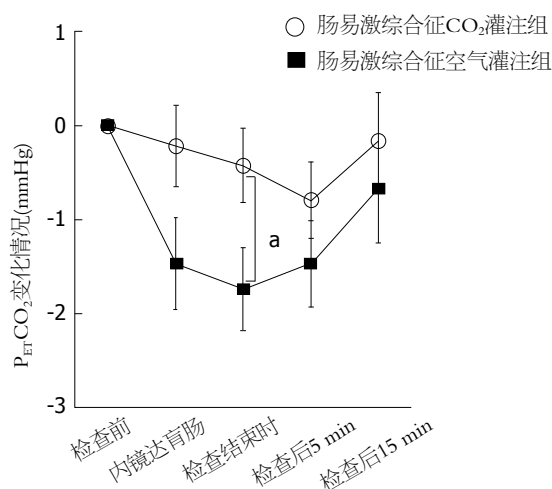


图 1 肠易激综合征CO₂及空气组不同时间点较检查前P_{ET}CO₂ P_{ET}平均值变化情况。**P*<0.05检查结束时 vs 检查后5 min。

(*P*<0.05)(表1)。

2.2 CO₂灌注用于肠易激综合征检查的舒适度 CO₂灌注组检查结束后30 min、1、6、24 h时VAS分值为0分者的比例分别为40.3%(25/62)、66.1%(41/62)、90.3%(56/62)、96.8%(60/62), 空气组则分别为22.7%(15/66)、48.5%(32/66)、72.7%(48/66)、86.4%(57/66)。2组于检查结束后30 min、1、6、24 h时统计比较的 χ^2 值依次为4.607、4.061、6.497、4.411; *P*依次为0.032、0.044、0.011、0.036。VAS在同一时间点分值为0分者于两组间的比较, CO₂灌注组比例较大, 且差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

2.3 CO₂灌注用于肠易激综合征检查的安全性 在进行肠镜检查前, 肠易激综合征CO₂及空气灌注组的P_{ET}CO₂分别为40.1 mmHg(95%CI: 39.1-41.3), 39.3 mmHg(95%CI: 38.2-40.0), 在检查过程中两组P_{ET}CO₂平均值均没有比检查前有所增加(图1)。插入内镜后, 空气灌注组P_{ET}CO₂平均值低于CO₂灌注组, 差异具有统计学意义; 并

可观察到检查结束后15 min两组P_{ET}CO₂平均值均有回升趋势。

3 讨论

内镜检查是一种消化内科筛检病变的有效手段, 在诊疗时, 需持续向胃及肠道注气, 以有最佳诊疗图像。然而, 此过程会导致胃及肠道持续扩张, 患者对注气引起的腹胀和腹痛耐受性不是特别好^[5,12,15]。近年来的研究表明, CO₂灌注代替空气灌注进行肠镜检查时, 因CO₂排出体外的方式可通过肺循环, 肠道扩张程度可得到缓解, 患者腹痛、腹胀可明显减轻^[16-18]。

目前认为IBS是临床上常见的功能性肠病, 属于有特殊病生基础的疾病, 是多因素作用的结果, 其发病机制还未十分清楚, 可能和胃肠动力异常、感染、免疫异常、心理异常及内脏高敏感性等因素有关^[7,9,19]。

在随机对照试验中, 已被证明CO₂灌注可显著减少患者结肠镜检查时的腹部疼痛和不适, 且安全性较好。而肠易激综合征结肠镜检查中有关采用CO₂灌注的国内报道极少。本研究表明, 检查前VAS评分, IBS CO₂灌注组及空气灌注组于检查前的不适程度均要高于对照组, 在肠镜检查中, IBS患者多有肠痉挛现象, 因内脏高度敏感及动力异常, 加上肠腔扭曲明显, 患者的疼痛敏感性也会增高。肠易激综合征患者中, VAS在同一时间点分值为0者于两组间的比较, CO₂灌注组比例较大, 这点表明CO₂灌注能提高舒适度。在进行肠镜检查过程中两组P_{ET}CO₂平均值均没有比检查前有所增加, 表明CO₂灌注用于肠易激综合征患者安全性较好。刘雄祥等^[20]以犬研究CO₂介导结肠镜检查的动物实验, 结肠镜检查结束1 h后腹部平片显示: CO₂组已有80%转为无扩张, 而空气组仍有50%维持重度肠扩张, 说明CO₂有明显的可吸收特性, 这一点已有大量文献

■ 应用要点

IBS的诊断过程需要临床检查需肠镜排除器质性疾病, 其中肠镜是重要的一种手段; 且IBS症状反复, 严重影响患者的生活质量, 提示探讨以CO₂灌注进行IBS结肠镜检查的舒适度和安全性具有一定价值。

证实^[6,10,12], pH值及P_{ET}CO₂值在检查前后没有明显差异, 这可能是因为结肠镜检查中应用CO₂气体流量较小, 机体能很快经呼吸排出代偿, 不会导致CO₂直接长时间接触肠黏膜。

总之, CO₂灌注组在肠易激综合征患者结肠镜检查中安全有效, 在消化内镜中应用有较大发展前景。本研究仅研究了肠易激综合征以CO₂灌注单一内镜的使用, 这样可能会降低整体结果的普遍性, 在今后实验条件允许的条件下, 应做多种内镜的盲法试验来进一步证实我们的研究结果。

4 参考文献

- 1 刘雄祥, 刘德良, 李杰, 欧大联, 周芝元. 应用二氧化碳进行结肠镜检查的安全性及有效性评价. 中南大学学报(医学版) 2009; 34: 825-829
- 2 Geyer M, Guller U, Beglinger C. Carbon dioxide insufflation in routine colonoscopy is safe and more comfortable: results of a randomized controlled double-blinded trial. *Diagn Ther Endosc* 2011; 2011: 378906 [PMID: 21747649 DOI: 10.1155/2011/378906]
- 3 Amato A, Radaelli F, Paggi S, Baccarin A, Spinzi G, Terruzzi V. Carbon dioxide insufflation or warm-water infusion versus standard air insufflation for unsedated colonoscopy: a randomized controlled trial. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 511-518 [PMID: 23478620 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318279addd]
- 4 Yamano HO, Yoshikawa K, Kimura T, Yamamoto E, Harada E, Kudou T, Katou R, Hayashi Y, Satou K. Carbon dioxide insufflation for colonoscopy: evaluation of gas volume, abdominal pain, examination time and transcutaneous partial CO₂ pressure. *J Gastroenterol* 2010; 45: 1235-1240 [PMID: 20635100 DOI: 10.1007/s00535-010-0286-5]
- 5 陈英, 杜斌, 杨春敏, 范勤, 韩全利, 李静, 贾敏, 于妍. 二氧化碳灌注提高老年患者结肠镜检查舒适度的随机对照研究. 胃肠病学 2012; 17: 288-292
- 6 陈英, 杨春敏, 唐合兰, 杜斌, 范勤, 贾敏, 于妍. 以二氧化碳为媒介的老年人结肠镜检查的安全性和舒适性. 中华老年多器官疾病杂志 2012; 11: 613-616
- 7 乔宇琪. 医师肠易激综合征诊断标准知晓率研究. 上海交通大学, 2009
- 8 李易, 韩盛玺. 肠易激综合征的结肠镜下表现. 中国内镜杂志 2008; 14: 628-629, 632
- 9 唐吟茵, 许树长, 吴萍. 食物敏感与肠易激综合征研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 35-39
- 10 Imai A, Kato M, Ono S, Shimizu Y, Takeda H, Asaka M. Efficacy of carbon dioxide-insufflating colonoscopy in patients with irritable bowel syndrome: a randomized double-blind study. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1623-1628 [PMID: 22694488 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07208.x]
- 11 Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561]
- 12 朱艳清, 刘德良, 霍继荣, 吴小平, 王雪红, 周芝元. 注入二氧化碳进行双气囊小肠镜检查的临床价值. 中华消化杂志 2012; 32: 853-855
- 13 范惠珍, 盛建文, 姚礼庆, 姜新宇. 二氧化碳减轻结肠镜检查术后腹痛的临床研究. 中国临床医学 2010; 17: 42-44
- 14 周先勇. 二氧化碳在电子结肠镜检中的应用价值. 医学临床研究 2009; 26: 2140-2141
- 15 Díez-Redondo P, Gil-Simón P, Alcaide-Suárez N, Atienza-Sánchez R, Barrio-Andrés J, De-la-Serna-Higuera C, Pérez-Miranda M. [Comparison between insufflation with air or carbon dioxide during the colonoscopy in sedated patients with propofol]. *Rev Esp Enferm Dig* 2012; 104: 411-417 [PMID: 23039801]
- 16 方军, 李兆申. 二氧化碳气体在消化内镜诊疗中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 718-720
- 17 Singh R, Neo EN, Nordeen N, Shanmuganathan G, Ashby A, Drummond S, Nind G, Murphy E, Luck A, Tucker G, Tam W. Carbon dioxide insufflation during colonoscopy in deeply sedated patients. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3250-3253 [PMID: 22783048 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3250]
- 18 陈卓, 贾晓璐, 刘沫言. 二氧化碳结肠镜检查有效性与安全性的Meta分析. 武警医学 2011; 22: 685-687, 692
- 19 杨微微, 汤玉蓉, 徐新寓, 王一琳, 林琳. 失眠及其相关精神因素对女性肠易激综合征患者的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2840-2844
- 20 刘雄祥, 刘德良, 刘文. 二氧化碳介导结肠镜检查的动物实验研究. 中国内镜杂志 2012; 18: 242-245

■名词解释

直观模拟量表: 疼痛评估的一种方法, 是视觉模拟评分法, 要求患者在横线上(横线起点为无痛, 终点为想象中最剧烈的疼痛)做记号或在标尺上定位。

■同行评价

本文观察了CO₂灌注在肠易激综合征患者结肠镜检查中应用的安全性及患者舒适度, 具有一定的理论意义和很好的应用推广价值。

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



经鼻型肠梗阻导管在急性麻痹性肠梗阻治疗中的应用价值

康春博, 刘金洪, 李旭斌, 林大鹏, 叶博, 李小伟, 陈秀峰, 刘庆良, 张鹏, 李铎

■背景资料

急性麻痹性肠梗阻是以肠道不能推进其内容物通过非梗阻性肠腔为特征的胃肠动力紊乱, 是一组具有肠梗阻症状和体征, 但无机械性肠道阻塞证据的临床综合征。急性麻痹性肠梗阻原则上不施行手术, 以内科保守治疗为主, 治疗的原则是改善和恢复肠道动力、缓解临床症状、减少并发症, 并纠正营养不良及水电解质失衡。因此, 肠道减压显得尤为重要。

康春博, 刘金洪, 李旭斌, 林大鹏, 叶博, 李小伟, 陈秀峰, 刘庆良, 张鹏, 李铎, 北京大学航天临床医学院 航天中心医院 微创胃肠外科 北京市 100049

康春博, 教授, 副主任医师, 主要从事胃肠疾病的临床研究工作。作者贡献分布: 本文由康春博、刘金洪、李旭斌、林大鹏、叶博、李小伟、陈秀峰、刘庆良、张鹏及李铎共同完成。

通讯作者: 李铎, 主任医师, 100049, 北京市海淀区玉泉路15号, 北京大学航天临床医学院, 航天中心医院微创胃肠外科普通外科。leeduo@hotmail.com

电话: 010-59972007

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-18 在线出版日期: 2013-08-28

Application of naso-intestinal decompression tubes in patients with acute paralytic intestinal obstruction

Chun-Bo Kang, Jin-Hong Liu, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Bo Ye, Xiao-Wei Li, Xiu-Feng Chen, Qing-Liang Liu, Peng Zhang, Duo Li

Chun-Bo Kang, Jin-Hong Liu, Xu-Bin Li, Da-Peng Lin, Bo Ye, Xiao-Wei Li, Xiu-Feng Chen, Qing-Liang Liu, Peng Zhang, Duo Li, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, Beijing 100049, China

Correspondence to: Duo Li, Chief Physician, Department of Surgery, Aerospace Center Hospital, Peking University, 15 Yuquan Road, Haidian District, Beijing 100049, China. leeduo@hotmail.com

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To explore the use of naso-intestinal decompression tubes (NDTs) in patients with acute paralytic intestinal obstruction.

METHODS: Clinical data for 48 patients with acute paralytic intestinal obstruction treated from November 2010 to March 2013 were retrospectively analyzed. NDTs were placed under gastroscopic guidance to the upper jejunum to conduct gastrointestinal decompression in 21 cases (treatment group), and traditional nasal gastric tubes were placed to perform conventional gastrointestinal decompression in 27 cases (control group). Gastrointestinal drainage volume, waist circumference reduction, indwelling time, length of hospital stay, catheter obstruction rate and mortality rate were compared between the two groups.

RESULTS: Drainage volume ($926 \text{ mL} \pm 243 \text{ mL}$ vs $926 \text{ mL} \pm 243 \text{ mL}$, $P < 0.05$) and waist circumference reduction ($12.6 \text{ cm} \pm 4.1 \text{ cm}$ vs $5.4 \text{ cm} \pm 3.5 \text{ cm}$, $P < 0.05$) were significantly more in the treatment group than in the control group. The rate of catheter obstruction (4.8% vs 40.7% , $P < 0.05$), indwelling time ($8.3 \text{ d} \pm 3.9 \text{ d}$ vs $13.4 \text{ d} \pm 5.6 \text{ d}$, $P < 0.05$), and hospitalization time ($12.1 \text{ d} \pm 4.8 \text{ d}$ vs $17.5 \text{ d} \pm 6.1 \text{ d}$, $P < 0.05$) were significantly lower in the treatment group than in the control group. No significant difference was found in mortality between the two groups (4.76% vs 7.40% , $P > 0.05$).

CONCLUSION: NDTs are superior to traditional nasogastric tubes in the management of acute paralytic intestinal obstruction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Paralytic ileus; Naso-intestinal decompression tube

Kang CB, Liu JH, Li XB, Lin DP, Ye B, Li XW, Chen XF, Liu QL, Zhang P, Li D. Application of naso-intestinal decompression tubes in patients with acute paralytic intestinal obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2470-2474 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2470.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2470>

摘要

目的: 探讨经鼻型肠梗阻导管在急性麻痹性肠梗阻治疗中的应用价值。

方法: 回顾性分析2010-11/2013-03 48例急性麻痹性肠梗阻患者, 其中21例(治疗组, $n = 21$) 在胃镜引导下将(经鼻型)肠梗阻导管放置空肠上端后行胃肠减压治疗; 27例(对照组, $n = 27$) 以传统的鼻胃管行常规胃肠减压治疗。对比分析两组患者的胃肠引流量、腹围减少、减压管留置时间、住院时间、导管阻塞率、死亡率。

结果: 治疗组引流量、腹围减少($926 \text{ mL} \pm 243 \text{ mL}$, $12.6 \text{ cm} \pm 4.1 \text{ cm}$)均明显高于对照组($337 \text{ mL} \pm 107 \text{ mL}$, $5.4 \text{ cm} \pm 3.5 \text{ cm}$, $P < 0.05$)。

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科; 刘连新, 教授, 哈尔滨医科大学第一临床医学院

治疗组的导管阻塞率、气液平面消失时间、住院时间(4.8%, 8.3 d±3.9 d, 12.1 d±4.8 d)明显低于对照组(40.7%, 13.4 d±5.6 d, 17.5 d±6.1 d, $P<0.05$). 两组患者的死亡率无明显差异(4.76% vs 7.40%, $P>0.2$).

结论: 经鼻型肠梗阻导管对急性麻痹性肠梗阻患者的治疗效果确切, 优于传统的鼻胃管.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 麻痹性肠梗阻; 经鼻型肠梗阻导管

核心提示: 采用胃镜直视下放置肠梗阻导管, 成功率高, 操作时间短, 插管成功后不用反复在X线下调导管的位置与深度, 并可避免给患者及操作者带来放射线损伤.

康春博, 刘金洪, 李旭斌, 林大鹏, 叶博, 李小伟, 陈秀峰, 刘庆良, 张鹏, 李铎. 经鼻型肠梗阻导管在急性麻痹性肠梗阻治疗中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2470-2474
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2470.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2470>

0 引言

急性麻痹性肠梗阻是指因各种原因影响到肠道植物神经系统的平衡或影响到肠道局部神经传导, 从而影响到肠道平滑肌的收缩, 使肠管扩张、蠕动消失而引起的肠梗阻. 临床具有肠梗阻的症状和体征, 但无机械性肠梗阻因素存在, 其病情复杂多变, 严重的可致死亡. 其治疗方法一般采用综合性非手术治疗, 以留置胃管及胃肠减压治疗为主, 配合促进胃肠动力药物、纠正水电解质紊乱、中医中药、针灸等. 由于传统胃管容易因导管阻塞或吸附于胃壁而使胃肠减压效果欠佳, 致使麻痹性肠梗阻的治疗失败或导致患者的住院时间延长. 我们采用经鼻型肠梗阻导管(naso-intestinal decompression tube, NDT)治疗麻痹性肠梗阻取得了良好的效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-11/2013-03我院收治的48例急性麻痹性肠梗阻患者作为研究对象, 其中男20例, 女28例, 年龄15-79岁, 中位年龄36岁. 患者的原发病分别为: 重症胰腺炎17例、术后早期炎性肠梗阻9例、腹水感染8例、伪膜性肠炎5例、腹膜后血肿4例、脊髓损伤3例、白血病骨髓移植后肠排斥反应2例, 二组间病种分配及患者一般情况如表1所示. 均符合麻痹性肠梗阻的

诊断标准: (1)临床表现如严重的腹胀、不同程度的腹痛、恶心呕吐及停止排气排便; (2)X线表现为多个气液平面及肠管广泛扩张、胀气; (3)不同程度的肠道动力障碍, 如肠鸣减弱或消失等. 治疗前常规行腹内压测定、腹围测定(为脐水平的腹部周径)、腹部B超、腹部CT、结肠镜、钡灌肠检查, 排除机械性肠梗阻、肠系膜血管性疾病等; 腹内压(intra-abdominal pressure, IAP)按膀胱内压测定^[1], 即患者取平卧位, 留置导尿管, 排空膀胱, 连接测压管, 将25 mL生理盐水注入导尿管后, 设定零点在腋中线位置, 在患者呼气末测得水柱高度(cm H₂O). 诊断为麻痹性肠梗阻后, 按照患者及家属意愿分为治疗组21例, 对照组27例, 其中治疗组通过经鼻型肠梗阻导管进行胃肠减压, 对照组通过普通鼻胃管进行胃肠减压治疗. 两组患者均常规禁食水、胃肠外营养支持、补液抗炎(除2例伪膜性肠炎患者)、维持水电解质稳定及酸碱平衡等治疗.

NDT购自大连库利艾特医疗制品有限公司的(经鼻型)肠梗阻导管套件, 包括肠梗阻导管和导丝, 其中肠梗阻导管为双腔二囊管, 为纯硅胶材料, 前端开孔, 双气囊, 规格型号: 16DBR 3000 TO G/W. (16 Fr L-3500 mm), 导丝为亲水性. 鼻胃管采用国产一次性普通鼻胃管, 直径5.3 mm, 总长度125 cm.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组($n = 27$)留置传统的鼻胃管行胃肠减压治疗. 治疗组($n = 21$)先将带导丝的肠梗阻导管预置于胃腔, 插入胃镜并吸净胃内容物后, 在胃镜引导下将肠梗阻导管送至十二指肠水平部, 并在胃镜监视下将带导丝的肠梗阻导管向空肠远端推送50-100 cm, 退出胃镜后, 向前气囊注入蒸馏水15-20 mL, 再缓慢退出导丝, 胃腔内导管多留置20 cm, 使其随小肠蠕动牵引导管逐渐向下移动, 次日行腹部X平片检查, 了解导管留置的位置及有无打折, 并根据情况进行相应调整, 每日记录导管留置深度. 定期冲洗二组患者的引流管, 并记录每日引流量, 3-5 d后复查腹部X平片, 了解肠腔内气液平面及肠腔扩张程度, 并进行病情评估. 观察两组患者的胃肠引流量、腹围减少(%)、减压管留管时间、住院时间、导管阻塞率、治疗成功率、死亡率、腹部X片气液平面消失时间. 腹痛缓解或明显减轻, 排气排便通畅, 肠鸣音恢复正常, 腹部X线片显示液平面消失为成功. 治疗组患者在拔管前1-2 h口服橄榄油50 mL, 排空气囊后缓慢拔出,

■ 研发前沿

本文采用胃镜直视下放置肠梗阻导管, 成功率可以达到100%, 操作时间短(平均11 min), 与相应文献报道的X线下放置肠梗阻导管的时间(16 min)相比稍有缩短; 插管成功后不用反复在X线下调整导管的位置与深度, 并可避免给患者及操作者带来放射线损伤.

■同行评价

文章的科学性、创新性和可读性较好,实用性较强,具有一定指导意义。

表 1 治疗组与对照组一般情况对比

	治疗组	对照组	P值
<i>n</i>	21	27	
年龄(岁)	35.7 ± 4.3	36.4 ± 5.1	>0.05
性别(男/女)	8/13	12/15	
腹内压(cm H ₂ O)	21.2 ± 4.8	20.9 ± 4.1	>0.05
最大小肠直径(cm)	5.6 ± 1.6	5.5 ± 1.4	>0.05
腹围(cm)	94.4 ± 12.8	92.8 ± 11.3	>0.05
肠梗阻原因			
重症胰腺炎	7	10	
手术后	4	5	
腹水感染	4	4	
伪膜性肠炎	3	2	
腹膜后血肿	1	3	
脊髓损伤	1	2	
移植后肠排斥反应	1	1	

表 2 治疗组与对照组治疗效果对比

	治疗组	对照组	P值
<i>n</i>	21	27	
日引流量(mL)	926 ± 243	337 ± 107	<0.05
治疗3 d后腹围(%)	85.6 ± 4.1	95.4 ± 3.5	<0.05
3 d后腹内压(cm H ₂ O)	11.4 ± 2.5	14.6 ± 3.1	<0.05
3 d后最大小肠直径(cm)	3.6 ± 1.1	4.7 ± 1.3	<0.05
腹胀腹痛缓解时间(d)	3.0 ± 1.2	5.8 ± 2.7	<0.05
导管阻塞率(%)	4.8	40.7	<0.05
排气排便恢复时间(d)	4.7 ± 3.1	7.8 ± 4.2	<0.05
腹气液平面消失时间(d)	8.3 ± 3.9	13.4 ± 5.6	<0.05
住院时间(d)	12.1 ± 4.8	17.5 ± 6.1	<0.05
死亡率(%)	4.76	7.4	<0.05

禁止用力、快速拔出。

1.2.2 疗效评价指标: (1)腹痛、腹胀等症状的变化情况; (2)每日胃肠道引流量; (3)腹内压变化情况; (4)自主排气、排便时间; (5)治疗3 d后腹围(%) (腹围测量方法为脐水平的腹部周径, 治疗前腹围视为100%, 治疗后腹围与之对比); (6)导管阻塞率; (7)定期行立位腹平片检查, 了解气液平面消失时间; (8)住院时间; (9)患者死亡率(表2)。

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件包进行统计分析, 对计量资料以中位数、mean ± SD来描述, 组内治疗前后的差别分析采用配对 t 检验。对计数资料以例数、百分比来描述, 二组间样本率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组患者的一般情况如性别、年龄、原发疾

病、腹胀程度等方面无统计学差异。其中, 治疗组21例患者肠梗阻导管均顺利插至空肠上端, 成功率100%, 操作时间6-25 min, 平均用时11 min, 术中无严重并发症发生, 除1例患者出现剧烈呕吐无法配合, 致使操作时间延长外, 其余20例患者耐受性良好。前气囊充盈后, 21例患者导管前进均良好, 基本24-48 h后症状明显减轻, 导管留置时间4-7 d。所有患者无出血、穿孔、球囊破裂等插入技术相关并发症。导管阻塞并发症发生率为4.76%。1例于置管后第5天死亡(该患者伴有淋巴细胞白血病, 死于肺部感染)。其余20例患者全部治愈, 临床症状在2-5 d内消失, 胃肠道功能恢复, 出现肠鸣音恢复、肛门排气、排便, 经导管造影显示肠管通畅。对照组27例患者中, 1 wk内症状消失5例, 症状缓解11例, 症状无改善7例, 症状加重4例; 其中7例经反复劝导后改为留

置经鼻型肠梗阻导管; 1例至引流后18 d逐渐恢复肠功能, 2例死亡(其中1例患者住院前有肠梗阻病程4 mo, 病情重, 但拒绝使用肠梗阻导管, 入院2 wk后死亡). 二组间死亡率差别无统计学意义($P>0.05$). 治疗组与对照组的各项治疗效果对比如表1所示.

3 讨论

急性麻痹性肠梗阻是以肠道不能推进其内容物通过非梗阻性肠腔为特征的胃肠动力紊乱, 是一组具有肠梗阻症状和体征, 但无机械性肠道阻塞证据的临床综合征^[1,2]. 急性麻痹性肠梗阻原则上不施行手术, 以内科保守治疗为主, 治疗的原则是改善和恢复肠道动力、缓解临床症状、减少并发症, 并纠正营养不良及水电解质失衡^[3]. 因此, 肠道减压显得尤为重要, 此时胃和小肠消化间期移行肌电复合波(myoelectric complex, MMC)周期缩短甚至完全消失, 胃排空及小肠传输延迟^[4]. 梗阻产生的气体、液体使肠管膨胀、压力升高, 肠壁血流障碍. 肠黏膜上皮缺血缺氧, 毛细血管通透性增加, 使大量血管内液体移至肠腔内, 肠腔释放抗吸收激素和旁分泌物质抑制液体吸收; 肠腔内细菌大量繁殖, 进一步加重产气和积液, 肠壁静脉回流受阻, 毛细血管及淋巴管淤积, 肠壁充血水肿、通透性增加、液体加重外渗, 形成恶性循环, 甚至引起腹腔间室综合征^[5], 而引起全身多脏器功能衰竭. 因此, 在减少胃肠液分泌、增加其吸收的同时, 减压治疗可阻断恶性循环, 成为治疗的关键. 只有将导管插入扩张的肠管进行吸引减压, 才能将咽下的空气和肠道中的食物快速、吸引并排除, 从而解决肠梗阻症状^[6]. 越早越迅速降低胃肠道压力及腹腔内压, 越有利于胃肠道功能恢复, 避免病情加重.

NDT有多个侧孔及补气孔, 较普通胃肠减压管明显地增加了肠内容引流的效率, 效果令人满意, 每日引流量可以达到 $926\text{ mL}\pm 243\text{ mL}$, 明显优于对照组 $337\text{ mL}\pm 107\text{ mL}$; 在行进过程中通过导管端、侧孔不断地吸引肠内容物, 从而可以快速、有效地进行肠内减压, 从而可以尽快地减轻肠管的扩张和肠壁水肿, 缓解肠梗阻症状, 经3 d治疗后最大小肠直径及IAP较对照组明显好转, 即: $3.6\text{ cm H}_2\text{O}\pm 1.1\text{ cm H}_2\text{O}$, $11.4\text{ cm H}_2\text{O}\pm 2.5\text{ cm H}_2\text{O}$ vs $4.7\text{ cm H}_2\text{O}\pm 1.3\text{ cm H}_2\text{O}$, $14.6\text{ cm H}_2\text{O}\pm 3.1\text{ cm H}_2\text{O}$. 减压治疗2-3 d后, 治疗组的腹围较对照组明显减少($12.6\text{ cm}\pm$

4.1 cm vs $5.4\text{ cm}\pm 3.5\text{ cm}$); 而且补气孔又可防止导管内负压过大, 吸住肠黏膜而阻塞导管侧孔, 减少导管阻塞的发生率(4.76% vs 40.7%). 在文献中有类似结果, 经鼻型肠梗阻导管能快速缓解患者的梗阻症状, 减少肠道缺血时间, 加快肠管功能恢复^[7-9].

传统的鼻胃管短, 很难通过幽门达到十二指肠, 减压仅限于胃腔内, 对肠腔内容物无直接抽吸作用, 故减压效果不满意. 尤其急性麻痹性肠梗阻患者大量气体、液体、不完全消化的食物滞留在肠道内, 引起全程肠管明显扩张. 为达到有效地、彻底地引流、减压, 必须将减压的引流管放置至小肠, 这就是将NDT应用到急性麻痹性肠梗阻中的原理^[9]. NDT长300 cm, 由内管、外管及前后两个气囊组成. 与传统的鼻胃管比较, 其长度长, 并设有缓冲孔, 不易引起导管堵塞, 引流充分, 减压效果好. 导管可随肠蠕动一直运行到回肠末端, 能对小肠进行全程减压治疗^[8]. 可以快速清除消化道内的细胞与毒素, 减轻其对肠道的麻痹作用. 同时还能加快解除肠梗阻造成的肠内压增高, 在本研究中3 d后最大小肠直径明显缩小, 从而可以快速改善肠壁血运, 缓解肠黏膜充血、水肿, 从而阻断肠梗阻的病理过程, 恢复肠道功能^[10], 可以很快减轻腹部胀痛症状. 引流后可经造影管口注入造影剂, 如泛影葡胺, 进一步明确病情. 本研究中, 二组患者在性别、年龄、腹围、腹内压、梗阻的原因及影像学检查方面都有很好的可比性. 本研究证实, 治疗组与对照组相比, 前者排气排便恢复时间及气液平面消失时间($4.7\text{ d}\pm 3.1\text{ d}$, $8.3\text{ d}\pm 3.9\text{ d}$)明显优于对照组($7.8\text{ d}\pm 4.2\text{ d}$, $13.4\text{ d}\pm 5.6\text{ d}$). 证实经鼻肠梗阻管效果确切, 优于普通的鼻胃管, 与相应的文献报道基本相似^[11]. 对照组的7例患者在使用鼻胃减压管时无法达到满意的治疗效果, 后改用经鼻肠梗阻导管, 腹痛、腹胀等症状迅速缓解, 肠鸣音很快恢复.

NDT是2003年经日本研制, 置管方法也从X线下置管逐渐转为胃镜直视下进行, 不但操作时间短、成功率高, 而且提高了安全性^[12]. 在本研究中, 均采用胃镜直视下放置肠梗阻导管, 成功率可以达到100%, 操作时间短(平均11 min), 与相应文献报道的X线下放置肠梗阻导管的时间(16 min)相比稍有缩短^[12,13]. 插管成功后不用反复在X线下调整导管的位置与深度, 并可避免给患者及操作者带来放射线损伤.

总之, NDT可以明显提高急性麻痹性肠梗阻

患者的胃肠减压及肠道的引流效果,促进肠道功能的早期恢复,缓解患者的腹胀、腹痛症状,缩短住院时间($P<0.05$)。目前经鼻型肠梗阻导管已在临床应用于肠梗阻的治疗,但在一定程度上仍受其昂贵价格的限制,但如果能在短时期内缓解梗阻症状,使患者早期恢复,不但能避免手术,还能明显缩短减少住院时间,也能以达到减少住院费用的目的^[14]。肠梗阻减压管对急性麻痹性肠梗阻的患者有确切效果,应该成为治疗的首选方法。通过胃镜辅助置管操作简单,成功率高,为该技术的推广提供了更好的技术支持。

4 参考文献

- 1 Malbrain ML, Cheatham ML, Kirkpatrick A, Sugrue M, Parr M, De Waele J, Balogh Z, Leppäniemi A, Olvera C, Ivatury R, D'Amours S, Wenden J, Hillman K, Johansson K, Kolkman K, Wilmer A. Results from the International Conference of Experts on Intra-abdominal Hypertension and Abdominal Compartment Syndrome. I. Definitions. *Intensive Care Med* 2006; 32: 1722-1732 [PMID: 16967294]
- 2 孙家邦, 李铎. 机械性、麻痹性、假性肠梗阻的鉴别诊断与治疗. *中国胃肠外科杂志* 1999; 2: 67-70
- 3 袁晨曦, 孙备, 姜洪池, 李军, 孟庆辉, 刘杰, 武林枫, 吴祥松. 以麻痹性肠梗阻为主要临床表现的急腹症29例诊治分析. *中国实用外科杂志* 2009; 29: 250-252
- 4 张连阳, 王正国, 朱佩芳. 休克、创伤、手术后胃肠道动力障碍. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 91-92
- 5 Boone B, Zureikat A, Hughes SJ, Moser AJ, Yadav D, Zeh HJ, Lee KK. Abdominal compartment syndrome is an early, lethal complication of acute pancreatitis. *Am Surg* 2013; 79: 601-607 [PMID: 23711270]
- 6 Gowen GF. Rapid resolution of small-bowel obstruction with the long tube, endoscopically advanced into the jejunum. *Am J Surg* 2007; 193: 184-189 [PMID: 17236844 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2006.11.005]
- 7 吴尉. 小肠减压管在小肠梗阻中的应用与护理. *护士进修杂志* 2011; 26: 1718-1719
- 8 姚宏伟, 傅卫, 王德臣, 袁炯, 张同琳, 修典荣. 鼻肠管减压及奥曲肽治疗术后早期炎性肠梗阻的临床研究. *中华外科杂志* 2010; 48: 564-567
- 9 朱燕辉, 丘敏梅, 阳生光, 黄丽霞. 鼻肠减压管在重症急性胰腺炎中的应用. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 286-289
- 10 Dayton MT, Dempsey DT, Larson GM, Posner AR. New paradigms in the treatment of small bowel obstruction. *Curr Probl Surg* 2012; 49: 642-717 [PMID: 23057861 DOI: 10.1067/j.cpsurg.2012.06.005]
- 11 陈小丽, 季峰, 林琪, 陈毅鹏, 林建江, 叶锋. 胃镜下经鼻型肠梗阻导管置入术治疗急性肠梗阻的疗效观察. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 522-524
- 12 Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Kubota K. Transnasal fine gastrointestinal fiberscope-guided long tube insertion for patients with small bowel obstruction. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 550-554 [PMID: 18622656 DOI: 10.1007/s11605-008-0587-7]
- 13 邵国良, 陈玉堂, 冯海洋, 范永田. 鼻肠减压管插入技术及其在小肠梗阻治疗中的应用. *介入放射学杂志* 2008; 17: 41-43
- 14 Fischer A, Schrag HJ, Goos M, Obermaier R, Hopt UT, Baier PK. Transanal endoscopic tube decompression of acute colonic obstruction: experience with 51 cases. *Surg Endosc* 2008; 22: 683-688 [PMID: 17623242 DOI: 10.1007/s00464-007-9461-z]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

腹腔镜直肠根治术与开腹直肠癌根治术治疗直肠癌的近期疗效对比

付敬伟, 秦晓青, 储宪群, 王 静, 高 伟

付敬伟, 秦晓青, 储宪群, 王静, 高伟, 山东省济宁市第一人民医院 山东省济宁市272000

付敬伟, 主治医师, 主要从事胃肠外科及疝与腹壁外的研究.

作者贡献分布: 此论文由付敬伟设计; 研究过程由秦晓青实施完成; 数据分析及病理支持由付敬伟、秦晓青及储宪群完成; 本文写作由付敬伟、王静及高伟共同完成.

通讯作者: 付敬伟, 主治医师, 272000, 山东省济宁市健康路6号, 山东省济宁市第一人民医院胃肠外科. fujingwei@liyun.com

收稿日期: 2013-06-18 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Short-term effects of laparoscopic radical resection versus traditional laparotomy in management of rectal cancer

Jing-Wei Fu, Xiao-Qing Qin, Xian-Qun Chu, Jing Wang, Wei Gao

Jing-Wei Fu, Xiao-Qing Qin, Xian-Qun Chu, Jing Wang, Wei Gao, the First People's Hospital of Shandong Province, Jining 272000, Shandong Province, China

Correspondence to: Jing-Wei Fu, Chief Physician, the First People's Hospital of Shandong Province, 6 Jiankang Road, Jining 272000, Shandong Province, China. fujingwei@liyun.com

Received: 2013-06-18 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To compare the short-term effects of laparoscopic radical resection versus traditional laparotomy in the management of rectal cancer.

METHODS: Seventy-six patients with rectal cancer who underwent radical resection were included in this study, of whom 38 underwent laparoscopic radical resection (observation group) and 38 underwent traditional laparotomy (control group). Short-term effects (number of resected lymph nodes, intraoperative, postoperative complications, operative time, blood loss, time to peristalsis recovery, time to ambulation, and length of stay) were observed and compared between the two groups. In addition, the patients were followed for 1 year to observe recurrence and survival.

RESULTS: The incidences of postoperative wound infection, inflammatory intestinal obstruction and overall complications were better in the observation group (all $P < 0.05$). The number of resected lymph nodes (19.7 ± 5.5 vs 17.4 ± 4.1), operative time ($139.8 \text{ min} \pm 39.8 \text{ min}$ vs $140.6 \text{ min} \pm 35.5 \text{ min}$), blood loss ($131.1 \text{ mL} \pm 59.3 \text{ mL}$ vs $123.3 \text{ mL} \pm 72.0 \text{ mL}$), time to peristalsis recovery ($48.9 \text{ h} \pm 11.6 \text{ h}$ vs $57.1 \text{ h} \pm 12 \text{ h}$), time to ambulation ($59.7 \text{ h} \pm 10.9 \text{ h}$ vs $70.2 \text{ h} \pm 15.4 \text{ h}$), and length of stay ($8.4 \text{ d} \pm 3.8 \text{ d}$ vs $11.2 \text{ d} \pm 2.8 \text{ d}$) were also better in the observation group (all $P < 0.05$). Tumor recurrence and survival at 3 and 6 months had no significant differences between the two groups ($P > 0.05$); however, the 1-year mortality rate was significantly lower in the observation group than in the control group (5.26% vs 21.05% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Laparoscopic radical resection is superior to traditional laparotomy in the management of rectal cancer in terms of improving short-term efficacy and survival and reducing the incidence of postoperative complications and recurrence.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic radical resection; Laparotomy; Rectal cancer; Short-term effects

Fu JW, Qin XQ, Chu XQ, Wang J, Gao W. Short-term effects of laparoscopic radical resection versus traditional laparotomy in management of rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2475-2479 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2475.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2475>

摘要

目的: 观察腹腔镜直肠根治术与开腹直肠癌根治术治疗直肠癌的近期疗效对比.

方法: 对76例直肠癌患者进行不同手术方案的临床分组, 其中38例手术方案为腹腔镜直肠根治术(观察组), 38例手术方案为开腹直肠癌根治术(对照组). 对两组患者近期疗效(淋巴结

■背景资料

直肠癌是我国发病率较高恶性肿瘤, 随着现代人饮食习惯与饮食结构的变化, 近年发病率有上升趋势, 手术切除是治疗直肠癌的主要方法. 随着腹腔镜技术及器械的发展, 腹腔镜直肠根治术开展的越来越广泛.

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

■ 研究前沿

本研究证明腹腔镜直肠根治术与传统的开腹手术一样具有技术上的安全性,腹腔镜直肠根治术中,对腹腔干扰少,术后恢复快,可以明显降低术后并发症,提高患者生存率,减少复发率。

清除数,术中、术后并发症、手术时间、术中出血量、肠蠕动恢复时间、下床活动时间、住院时间等进行观察比较。此外,对患者进行为期1年的跟踪随访,观察两组患者的近期复发率、生存率。

结果: 两组手术患者术程中均顺利,术后并发症方面,观察组在减低切口感染(0例)、炎性肠梗阻(0例)以及并发症总例数(10例)等均显著优于对照组(5、5、22例)($P<0.05$)。观察组淋巴结清除数($19.7\text{个}\pm 5.5\text{个}$)、手术时间($139.8\text{ min}\pm 39.8\text{ min}$)、术中出血量($131.1\text{ mL}\pm 59.3\text{ mL}$)、肠蠕动恢复时间($48.9\text{ h}\pm 11.6\text{ h}$)、下床活动时间($59.7\text{ h}\pm 10\text{ h}$)、住院时间($8.4\text{ d}\pm 3.8\text{ d}$)等观察指标明显优于对照的($17.4\text{个}\pm 4.1\text{个}$)、($140.6\text{ min}\pm 35.5\text{ min}$)、($123.3\text{ mL}\pm 72.0\text{ mL}$)、($57.1\text{ h}\pm 12\text{ h}$)、($70.2\text{ h}\pm 15.4\text{ h}$)、($11.2\text{ d}\pm 2.8\text{ d}$)差异有统计学意义($P<0.05$)。3、6 mo肿瘤复发率及生存率两组未见明显差异($P>0.05$)。1年死亡率比较,观察组为5.26%,低于对照组的21.05%($P<0.05$)。

结论: 腹腔镜直肠根治术治疗直肠癌的疗效确切,能够提高近期疗效,减少术后并发症的发生,同时提高患者1年生存率,减少复发率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔镜直肠根治术; 开腹直肠癌根治术; 直肠癌; 近期疗效

核心提示: 本研究就目前临床上较常使用的两组直肠癌根治术的近期疗效进行了分组观察,在近期疗效指标方面,发现观察组患者在接受腹腔镜直肠根治术后,拥有手术切口小、术后切口疼痛较轻、肠蠕动恢复时间早、下床活动以及住院时间时间短等优势。此外,在腹腔镜的手术过程中,发现腹腔镜下视野清晰、照度较好。而腹腔镜特有的放大作用能够将盆腔筋膜间隙及植物神经非常清晰地呈现在屏幕上,为手术医师的操作带来了较大的安全性。

付敬伟, 秦晓青, 储宪群, 王静, 高伟. 腹腔镜直肠根治术与开腹直肠癌根治术治疗直肠癌的近期疗效对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2475-2479 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2475.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2475>

0 引言

直肠癌的发病率仅次于胃癌与食道癌,属于恶性程度较高消化系肿瘤。目前的研究表明^[1],伴随着现代人饮食习惯与饮食结构的变化,恶性

肿瘤的发病率出现逐年上升的趋势。对于早期直肠癌的患者,临床上主要以手术治疗为主^[2]。目前,临床上治疗直肠癌的手术方案主要有两种:传统的开腹直肠癌根治术以及最近采用较多的腹腔镜直肠根治术。临床实践表明,与传统的开腹直肠癌根治术相比较,腹腔镜直肠根治术具有手术切口更小、术后恢复快以及术后并发症少等优点,已在临床上广泛使用^[3]。我院采用腹腔镜直肠根治术治疗直肠癌患者,发现具有显著的近期疗效,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-12/2011-12济宁市第一人民医院收治的结直肠癌患者76例,均已经临床病理检查确诊为直肠癌。根据患者手术方案进行临床分组,其中38例手术方案为腹腔镜直肠根治术(观察组),38例手术方案为开腹直肠癌根治术(对照组)。观察组男24例、女14例,年龄62-81岁,平均年龄 $68.7\text{岁}\pm 11.4\text{岁}$ 。采用TNM进行肿瘤分期,其中T1NxM0 5例, T2NxM0 14例, T3NxM0 19例;患者平均肿瘤直径 $2.7\text{ cm}\pm 0.8\text{ cm}$;对照男25例、女13例,年龄60-79岁,平均年龄 $68.2\text{岁}\pm 11.6\text{岁}$ 。其中T1NxM0 5例, T2NxM0 13例, T3NxM0 20例患者平均肿瘤直径 $3.0\text{ cm}\pm 1.1\text{ cm}$ 。对两组患者的性别、年龄、肿瘤分期肿瘤大小等一般资料进行比较,发现两组间差异并无统计学意义($P>0.05$),说明两组患者具有临床可比性。

1.2 方法

1.2.1 手术: 两组患者麻醉及手术前处理均相同,均予禁食6 h以上,麻醉方案为气管插管下全身麻醉,手术时体位选择为截石位,术前放置导尿管。(1)腹腔镜直肠根治术:用Veress针于脐孔内穿刺,腹腔内注入二氧化碳气体约2-3 L,沿脐下缘环形或纵行切开皮肤,行脐孔套针穿刺,置入腹腔镜,遵循全直肠系膜切除的原则。首先,使用超声刀从根部离断肠系膜下动脉,同时从胰腺下缘离断肠系膜下静脉。此外,逐层缓慢分离直肠系膜脏层以及壁层逐层,并将直肠游离后先划定直肠远端预切缘,肿瘤距肛门 $>8\text{ cm}$ 者,其远端切缘距瘤体4-5 cm;肿瘤距肛门4-8 cm者,其远端切缘距瘤体2-3 cm,灭菌蒸馏水500 mL冲洗远端直肠腔,用腹腔内线型切割吻合器距肿瘤下端3 cm以上切断肠管。扩大骶前穿刺孔切口并放置保护套,于近端乙状结肠距肿瘤8-10 cm处离断肠管,经套内将肿瘤取出。同时,清除肿

表 1 两组患者近期疗效指标比较 ($n = 38$, mean \pm SD)

分组	淋巴结清除数(个)	手术时间(min)	术中出血量(mL)	肠蠕动恢复时间(h)	下床活动时间(h)	住院时间(d)
观察组	19.7 \pm 5.5	139.8 \pm 39.8	131.1 \pm 59.3	48.9 \pm 11.6	59.7 \pm 10.9	8.4 \pm 3.8
对照组	17.4 \pm 4.1	140.6 \pm 35.5	123.3 \pm 72.0	57.1 \pm 12.3	70.2 \pm 15.4	11.2 \pm 2.8
t 值	2.07	0.09	0.52	2.99	3.43	3.66
P 值	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

■ 相关报道

近年来腹腔镜直肠根治术已在我国各级医院推行开来,大量研究证明,腹腔镜直肠根治术可以达到开腹手术同样的效果,并可以降低术后并发症发生率,提高生存期。

表 2 两组患者术后并发症情况比较 ($n = 38$)

分组	腹腔出血	吻合口漏	切口感染	炎性肠梗阻	吻合口出血	尿路感染	肺部感染	并发症总例数
观察组	2	0	0	0	3	3	2	10
对照组	1	1	5	5	4	3	3	22
χ^2 值	0.34	1.01	5.08	5.08	0.16	0.00	0.21	4.75
P 值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 3 两组患者术后1年内肿瘤复发及死亡率比较 ($n = 38$, %)

分组	术后3 mo		术后6 mo		术后1年	
	复发率	死亡率	复发率	死亡率	复发率	死亡率
观察组	2.63(1/38)	0(0/38)	5.26(2/38)	2.63(1/38)	7.89(3/38)	5.26(2/38)
对照组	5.26(2/38)	2.63(1/38)	10.53(4/38)	7.89(3/38)	26.32(10/38)	21.05(8/38)
χ^2 值	0.35	1.01	0.72	1.06	4.55	4.15
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

瘤组织周围淋巴结。通过穿刺孔置入吻合器,连接远端肠管,收紧荷包,还纳并缝合。重建气腹,在腹腔镜直视下经肛门置入吻合器,穿刺器经闭合线中央戳出,对合钉座完成低位或超低位的结肠-肛管吻合,经右麦氏点穿刺放置引流管于吻合切口;(2)开腹直肠癌根治术:开腹手术程序基本相同,手术中同时清除病灶周围淋巴结。

1.2.2 观察指标: (1)近期疗效指标:包括淋巴结清除数,术中、术后并发症、手术时间、术中出血量、肠蠕动恢复时间、下床活动时间以及住院时间等;(2)术后随访:每位患者出现后均进行跟踪随访,随访在术后3、6 mo、1年各进行1次,记录1年内患者的肿瘤复发率以及死亡率。

统计学处理 应用SPSS14.0软件,计量资料以mean \pm SD表示,均数比较采用 t 检验、方差因素分析,计数资料比较采用方差检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者近期疗效指标比较 经过手术治疗,我们对两组患者的淋巴结清除数、肠蠕动恢复时间、下床活动时间以及住院时间等指标进行

了观察,发现上述指标,观察组均显著优于对照组,两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),而在手术时间、术中出血量两个观察指标上,两组差异并无统计学意义($P > 0.05$,表1)。

2.2 两组患者术后并发症情况比较 腹腔出血、吻合口漏、切口感染、炎性肠梗阻、吻合口出血、尿路感染、肺部感染是直肠癌患者术后主要出现的术后并发症。通过统计,我们发现,在切口感染、炎性肠梗阻以及总并发症例数方面,观察组明显少于对照组,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$,表2)。

2.3 两组患者术后1年内肿瘤复发及死亡率比较 手术后,我们对两组患者均进行了1年的跟踪随访,期间未出现患者失访。结果显示,观察组患者术后3、6 mo、1年的肿瘤复发率分别为2.63%、5.26%、7.89%,对照组患者术后3、6 mo、1年的肿瘤复发率分别为5.26%、10.53%、26.32%。死亡率方面,观察组患者术后3、6 mo、1年的死亡率分别为0%、2.63%、5.26%,对照组患者术后3、6 mo、1年的死亡率分别为2.63%、7.89%、21.05%。3、6 mo肿瘤复发率及生存率两组未见明显差异($P > 0.05$),1年死亡率

■应用要点

遵循直肠全系膜切除的原则,术中应用超声刀,仔细游离寻找系膜间隙,腹腔镜下可以更彻底的清扫淋巴结。腹腔镜直肠根治术手术疗效确切,能够有效降低并发症发生率,提高术后生存期,值得临床进一步研究与推广。

及复发率比较,观察组明显高于对照组($P<0.05$,表3)。

2.4 术后随访 术后2组患者均接受了化疗,其中辅助化疗56例。两组辅助化疗率、化疗方案构成及辅助化疗完成率均无显著性差异($P>0.05$)。1年后观察组、对照组分别有2例、8例患者出现死亡,均为远处转移。

3 讨论

直肠癌有着仅次于肺癌的死亡率,晚期结直肠癌会引起癌细胞的各器官广泛转移,影响机体的各项生理功能^[4]。不健康的饮食和生活习惯,饮食中蛋白质脂肪成分增多而粗纤维成分减少是大肠癌最重要的病因^[5]。手术的治疗是本病治疗的重要方式,目前采用腹腔镜进行直肠癌手术是近年来临床上开展较多的一类的手术方案,特别是在肿瘤发生淋巴结转移前尽早进行手术,能够有效降低患者近期死亡率、提高远期生存率^[6]。目前的研究认为^[7],腹腔镜手术在早期直肠癌患者中具有较大的优势,由于在腹腔镜下,对盆、腹腔脏器的干扰相对较少,术中出血量较以往的传统开腹手术有了一定程度上的改进,对患者术后的恢复速度和疼痛程度也较传统的手术有很大的改进,并且在腹腔镜手术中视野较以往开阔并且清晰能够发现盆腔内其他在开腹手术中无法观测到的细小病灶。因此,可以采取针对性的措施将其处理。目前,我国各级医院越来越多的医者将腹腔镜手术作为治疗直肠癌的首选术式。总体来讲,其主要有以下几项优势^[8-10]:(1)腹腔不被切开,因此重要脏器不直接暴露于空气中,减少了术后感染的发生率;(2)借助于摄像系统手术视野的暴露比传统手术充分,因此操作上更为精确;(3)手术操作以上的部位不会受到不必要的操作干扰;(4)手术中切割均由电凝刀操作,因此切开、止血更为方便,而且能够明显减少手术区域的异物,能够降低术后发生盆腔粘连等情况。

本研究就目前临床上较常使用的两组直肠癌根治术的近期疗效进行了分组观察,在近期疗效指标方面,我们发现观察组患者在接受腹腔镜直肠根治术后,拥有手术切口小、术后切口疼痛较轻、肠蠕动恢复时间早、下床活动以及住院时间时间短等优势。此外,在腹腔镜的手术过程中,我们发现腹腔镜下视野清晰、照度较好。而腹腔镜特有的放大作用能够将盆腔筋膜间隙及植物神经非常清晰的呈现在屏幕上,

为手术医师的操作带来了较大的安全性。由于视野清晰,因此在处理肿瘤病灶时,还能提前发现病灶周围一些不明显的肿大淋巴结以及微小病灶,容许手术医生进行更为精细的锐性分离。由于手术全程中使用电凝刀操作,虽然本研究中,未发现腹腔镜手术与开腹手术之间存在明显的术中出血量差异,但电凝刀操作对游离与保持术野分离层面的清晰十分有利。特别对一些深层次、难于显露的血管、淋巴结等更能精准进行相关手术操作。就男性患者而言,由于男性的骨盆较女性更为狭小,其优点发挥的更为显著,能够更为准确地判断盆筋膜脏壁层间疏松组织间隙,为手术医师选择入路提供直接依据^[11]。因此,在临床手术治疗中低位直肠癌患者中,腹腔镜直肠根治术拥有的相关优点,是传统的开腹手术所达不到。但腹腔镜手术在直肠癌治疗中也存在一定的问题,如吻合口漏是否易发,盆底腹膜关闭的问题。本研究中,观察组未出现1例吻合口漏,其原因有以下2点:(1)本研究中的腹腔镜患者均选取近几年,因此绝大部分腹腔镜直肠前切除术的吻合是由旋转切割闭合器完成的。与传统的直线切割闭合器比较,前者操作更容易且切割线更短;(2)本研究采用临床意义的吻合口瘘,不包括影像学检查发现的吻合口瘘。

就近期疗效而言,我们对两组患者的淋巴结清除数、手术时间、术中出血量、肠蠕动恢复时间、下床活动时间以及住院时间等指标进行了观察,发现上述指标中,除手术时间以及术中出血量外,其他指标观察组均显著优于对照组。这证明腹腔镜在直肠癌患者治疗中的优势极为明显,而且,腹腔镜直肠癌根治术与传统的开腹手术一样具有技术上的安全性。在术后并发症方面,我们发现观察组患者切口感染与炎性肠梗阻的例数明显低于对照组,其他并发症指标,虽然两组之间无明显的差异,但在总的并发症例数方面,对照组还是明显多于观察组的。关于观察组未见明显的切口感染与炎性肠梗阻,这可能与腹腔镜术后患者的恢复较快,下床活动时间较快有关。1年内肿瘤复发及死亡率方面,我们发现在术后3 mo及术后6 mo,两组肿瘤复发率及死亡率相比较无明显的差异。而在术后1年后,观察组复发率、死亡率分别为7.89%、5.26%,而对照组复发率、死亡率分别为26.32%、21.05%。说明在近期生存率方面,腹腔镜手术能够较大程度上降低患者的死亡率以

及复发率. 其原因可能与手术的创伤小, 对于肿瘤组织周围淋巴结、微小病灶的清除更为有效有关. 1年患者死亡情况方面, 观察组与对照组分别为2例、8例, 均为远处转移, 造成该情况可能与本研究的纳入病例较少有关. 因此, 对于腹腔镜与开腹手术在直肠癌手术中的早期以及中晚期生存率是否存在影响, 还有待进一步研究.

无论何种手术, 最大的一个缺点在于对患者的组织、器官等损伤较大, 并能刺激机体产生血管内皮生长因子^[12]. 有研究证明^[13], 内皮生长因子能够诱导血管内皮细胞出现明显的增殖、迁移, 并最终形成新的血管. 此外, VEGF还被证明是一种肿瘤生长促进因子, 在肿瘤患者的复发及转移中均扮演了一个重要角色^[14,15]. 本研究限于时间与条件所限, 并没有对VEGF进行深入的研究. 因此, 对于腹腔镜、开腹手术之间的差异仅仅进行了近期疗效的观察, 对于两组手术方案中远期的疗效、复发等情况, 并未进行评估. 因此, 对于两种手术方案在直肠癌患者中远期的疗效, 还待未来进行进一步的临床研究.

总之, 腹腔镜直肠根治术治疗直肠癌的疗效确切, 能够提高近期疗效, 减少术后并发症的发生, 同时提高患者1年生存率, 减少复发率.

4 参考文献

- 1 袁殿宝, 文西年, 许新才, 李涛. 达芬奇机器人手术系统与腹腔镜手术在直肠癌TME中疗效的Meta分析. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3804-3810
- 2 邢岩伟, 赵龙, 朱跃坤. 腹腔镜技术在开腹直肠癌手术流程中的应用. 广东医学 2012; 33: 982-984
- 3 田衍, 罗华友. 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床疗效. 中国老年学杂志 2013; 33: 308-309
- 4 陈图锋, 郭卫平, 方佳峰, 魏波, 郑宗珩, 卫洪波. 高龄患者腹腔镜下胃癌及直肠癌联合根治术两例. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 149-151
- 5 张成余. 老年直肠癌患者行腹腔镜与开腹直肠癌根治术的近远期疗效对比. 山东医药 2011; 51: 92-93
- 6 赵国刚, 冯富星, 运涛, 白雪巍. 多学科协作诊治模式下治疗不可切除结直肠癌67例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1895-1899
- 7 葛磊, 王海江, 赵泽亮, 杨新辉, 赵为民, 帕尔哈提, 刘林. 腹腔镜中下段直肠癌根治术的近期疗效及安全性分析. 中华医学杂志 2012; 92: 98-101
- 8 郭基珍, 王晓俊, 王向. 老年患者行腹腔镜直肠癌根治术的疗效. 中国老年学杂志 2011; 31: 2349-2350
- 9 王益民, 刘胜新, 殷奇, 罗金波, 刘庆滨, 张浩. 腹腔镜辅助直肠外翻低位直肠癌前切除27例. 中国肿瘤临床 2012; 39: 408-409, 417
- 10 肖毅, 孙曦羽, 牛备战, 郑毅, 熊光冰, 玄之玄, 张冠南, 周皎林, 吴斌, 林国乐. 掌握腹腔镜结直肠手术技术—从起步到熟练的个人经验. 中华外科杂志 2012; 50: 1063-1067
- 11 蒋会勇, 张雪峰, 王希泽, 李谨, 张成. 手助腹腔镜与腹腔镜辅助全直肠系膜切除的近期临床效果对比. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 517-519
- 12 温学文, 张彤, 罗劲根, 梁雄伟. 腹腔镜下直肠癌根治术与开腹手术的疗效比较. 广东医学 2011; 32: 1304-1306
- 13 黄美近, 彭慧, 王辉, 梁景琳, 饶本强, 康亮, 张兴伟, 汪建平. 直肠癌腹腔镜与开腹手术肿瘤清除及远期疗效的随机对照试验荟萃分析. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 606-610
- 14 白东林. 腹腔镜下Mile's手术和改良Bacon's手术治疗直肠癌的临床疗效比较. 海南医学 2013; 24: 1038-1040
- 15 何振华, 张森. 结直肠癌NCCN、NICE指南及中国卫生部诊疗规范的比较. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1297-1302

■同行评价

本文针对腹腔镜直肠根治术与开腹直肠癌根治术治疗直肠癌的近期疗效进行了对比研究, 发现腹腔镜直肠根治术疗效确切, 值得临床进一步推广, 具有良好的临床应用前景.

编辑 田滢 电编 闫晋利



消化性溃疡患者的心理状况调查及健康教育指导对NK细胞的影响

陈力, 陈玉龙, 徐春晖, 王业忠, 席睿

■背景资料

消化性溃疡指发生于胃和十二指肠的慢性溃疡, 各种生物因素和心理社会因素相互作用, 共同参与了消化性溃疡的发生。该病病程长、呈周期性反复发作, 研究表明, 饮食、用药不当、嗜烟酒、过度紧张、劳累、幽门螺杆菌感染和胃黏膜保护作用减弱等因素是引起消化性溃疡的重要环节, 而精神因素对患者有直接影响, 其不良的情绪可以影响人体的免疫功能。

陈力, 徐春晖, 王业忠, 席睿, 郑州大学第五附属医院 河南省郑州市 450052

陈玉龙, 郑州大学第一附属医院 河南省郑州市 450000

陈力, 主治医师, 主要从事精神医学的临床工作和研究。

作者贡献分布: 陈力与陈玉龙对此文所作贡献均等; 此课题由陈力、陈玉龙及徐春晖设计; 研究过程由陈力、陈玉龙、徐春晖、王业忠及席睿操作完成; 研究用试剂与分析工具由席与徐春晖提供; 数据分析由陈力与徐春晖完成; 本论文写作由陈力、陈玉龙及徐春晖完成。

通讯作者: 陈力, 主治医师, 450052, 河南省郑州市二七区康复前街3号, 郑州大学第五附属医院精神医学科。clxch@tom.com

收稿日期: 2013-06-07 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-08-28

Psychological status of patients with peptic ulcer and impact of health education and guidance on NK cells

Li Chen, Yu-Long Chen, Chun-Hui Xu, Ye-Zhong Wang, Rui Xi

Li Chen, Chun-Hui Xu, Ye-Zhong Wang, Rui Xi, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Yu-Long Chen, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Correspondence to: Li Chen, Attending Physician, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 3 Kangfu Qian Street, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. clxch@tom.com

Received: 2013-06-07 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate the psychological status of patients with peptic ulcer and to assess the impact of health education intervention on NK cells in these patients.

METHODS: Ninety-eight patients with peptic ulcer were included in this study. Their mental status was assessed using the Symptom Checklist (SCL-90) for Mental Status, and appropriate health education and guidance were then given. The Self-Rating Depression Scale (SDS) and Self-Rating Anxiety Scale (SAS) were used to evaluate depression and anxiety between before and after health education and guidance. Peripheral

blood natural killer (NK) cell activity was also compared.

RESULTS: The total SCL-90 score (138.07 ± 31.33) for the 98 patients was significantly higher than the national adult norm ($t = 2.345, P < 0.05$). Anxiety ($t = 3.878, P < 0.001$), hostility ($t = 2.271, P < 0.05$) and terror symptom scores ($t = 3.166, P < 0.001$) were also higher than the national adult norm. After health education and guidance, the patient-related disease and health knowledge and other aspects of mastery significantly improved compared to before education. SDS and SAS scores were significantly decreased 4 weeks after health education (both $P < 0.01$). NK cell activity was significantly higher after education than before education ($19.23\% \pm 45.60\%$ vs $24.65\% \pm 6.89\%$, $t = 3.32, P < 0.01$).

CONCLUSION: Patients with peptic ulcer suffer from obvious emotional disorders and sometimes immune dysfunction. Health education and guidance are important for preventing and controlling disease progression and delaying the occurrence of complications.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Peptic ulcer; Mental status; Health education; NK cells

Chen L, Chen YL, Xu CH, Wang YZ, Xi R. Psychological status of patients with peptic ulcer and impact of health education and guidance on NK cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2480-2484 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2480.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2480>

摘要

目的: 探讨消化性溃疡患者的心理状况及健康教育干预前后对自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞的影响, 为消化性溃疡患者的健康教育提供参考依据。

方法: 对98例消化性溃疡患者采用症状自评

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

量表(SCL-90)进行心理状况调查, 给予相应的健康教育指导. 在健康教育前后采用抑郁自评量表(self-rating depressive scale, SDS)及焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)进行评定, 比较分析患者对外周血NK细胞活性的影响.

结果: 98例消化性溃疡患者症状自评量表(SCL-90)中, 总分(138.10 ± 31.40)显著高于全国成人常模($t = 2.348, P < 0.05$), 并且焦虑($t = 3.872, P < 0.001$)、敌对($t = 2.269, P < 0.05$)和恐怖症状($t = 3.167, P < 0.001$)均高于全国成人常模($P < 0.05$). 经健康教育指导后, 患者有关疾病及健康知识等方面的掌握程度较教育前有明显提高. 通过SDS、SAS评定, 患者健康教育4 wk末评分均有显著性下降($P < 0.01$). NK细胞活性 $19.31\% \pm 5.70\%$ 低于健康教育后 $25.25\% \pm 7.01\%$, 差异具有统计学意义($t = 3.35, P < 0.01$).

结论: 消化性溃疡患者存在明显的情绪障碍, 常伴有细胞免疫功能异常, 健康教育指导对预防控制疾病的进展, 延缓并发症的发生具有重要意义.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 消化性溃疡; 心理状况调查; 健康教育; NK细胞

核心提示: 本文探讨消化性溃疡患者的心理状况, 并对其出现的心理问题施以相应的健康教育, 对提高细胞免疫功能, 控制疾病的进展, 延缓并发症的发生可产生重要意义.

陈力, 陈玉龙, 徐春晖, 王业忠, 席睿. 消化性溃疡患者的心理状况调查及健康教育指导对NK细胞的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2480-2484 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2480.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2480>

0 引言

消化性溃疡指发生于胃和十二指肠的慢性溃疡, 各种生物因素和心理社会因素相互作用, 共同参与了消化性溃疡的发生^[1]. 该病病程长、呈周期性反复发作, 研究表明, 饮食、用药不当、嗜烟酒、过度紧张、劳累、幽门螺杆菌感染和胃黏膜保护作用减弱等因素是引起消化性溃疡的重要环节, 而精神因素对患者有直接影响^[2], 其不良的情绪可以影响人体的免疫功能. 自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)是机体重要的免疫

细胞, 与抗肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关, 可在骨髓、脾脏、淋巴结中出现, 约占所有淋巴球的细胞的5%-10%, 他可以消灭许多种病原体及多种肿瘤细胞. 在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生. NK细胞还通过自然杀伤和ADCC发挥细胞不良作用, 在机体抗病毒感染、免疫监视中起重要作用.

临床上研究在治疗患者的同时进行健康教育, 患者治疗的依从性得到明显提高, 焦虑抑郁等心理问题的发生率减少, 明显加强了患者的保健意识和自我护理能力^[3], 改善生活质量. 本文探讨消化性溃疡患者的心理状况, 并对其出现的心理问题施以相应的健康教育, 对提高细胞免疫功能, 控制疾病的进展, 延缓并发症的发生可产生重要意义. 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-05/2012-06在我院经胃镜检查确诊为胃溃疡及十二指肠球部溃疡入院治疗的患者98例. 住院患者均符合《内科学》消化性溃疡诊断标准^[4]. 其中胃溃疡53例, 十二指肠球部溃疡45例; 年龄35-60岁, 平均年龄39岁 \pm 12岁.

1.2 方法

1.2.1 症状自评量表(SCL-90): 问卷^[5]共90个项目, 归纳为9个基本因子, 即躯体化、强迫症状、人际关系敏感、抑郁、焦虑、敌对、恐怖、偏执、精神病性. 评定标准: 每个条目按1-5分评分, 1-5分分别表示无症状、轻度、中度、严重、非常严重. 得分越高说明该项症状越明显. 量表填写采用统一的指导语, 对不能理解题意者, 调查者给予解释并征得同意后代为填写. 将测评结果与全国成人常模^[6]进行对比分析.

1.2.2 焦虑自评量表、抑郁自评量表评定: 健康教育前和4 wk末采用焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depressive scale, SDS)^[7]问卷调查表对患者进行焦虑、抑郁评定. 量表填写使用统一指导语. 对评定结果进行对比分析.

1.2.3 自行设计的问卷调查表分析: 采用自行设计的问卷调查表, 对自愿参加本研究并表示能够如实表达心理状态的患者进行调查, 由主管护师或医师直接与患者面谈, 了解患者的态度及存在的心理问题, 并给予针对性的健康教育, 内容主要为一般医学相关知识, 药物的有关问题, 不良行为方式改变, 合理饮食, 遵医嘱服药等问题, 同时给予心理支持及感情介入, 要及时了

■ 相关报道

研究显示, 压抑、紧张均可损伤细胞DNA的自然修复, 严重的心理应激可以使T辅助细胞和/或T杀伤细胞的比值下降、NK细胞数量减少, 降低T细胞和单核细胞的内部反应活性, 导致细胞免疫功能的低下.

■应用要点

临床上研究在治疗患者的同时进行健康教育, 患者治疗的依从性得到明显提高, 焦虑抑郁等心理问题的发生率减少, 明显加强了患者的保健意识和自我护理能力, 改善生活质量。

表 1 消化性溃疡患者与全国成人常模SCL-90各因子分比较 (mean ± SD)

	消化性溃疡患者	全国成人常模	<i>t</i> 值
<i>n</i>	98	1388	
躯体化	1.32 ± 0.30	1.29 ± 0.42	1.256
强迫症状	1.66 ± 0.42	1.44 ± 0.56	1.102
人际关系敏感	1.59 ± 0.47	1.65 ± 0.61	0.919
抑郁	1.57 ± 0.49	1.50 ± 0.59	1.608
焦虑	1.59 ± 0.41 ^b	1.39 ± 0.43	3.872
敌对	1.58 ± 0.43 ^a	1.46 ± 0.55	2.269
恐怖	1.37 ± 0.35 ^b	1.23 ± 0.41	3.167
偏执	1.44 ± 0.52	1.63 ± 0.58	0.620
精神病性	1.42 ± 0.35	1.37 ± 0.48	0.909
总分	138.10 ± 31.40	129.76 ± 38.66	2.348

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.001 vs 全国成人常模。

解患者的医疗情况, 确保向患者传授健康知识时与医生保持一致, 以提高患者的信任度。健康教育2次/wk, 时间每次20-30 min。

1.2.4 健康教育实施方式: 运用个体化灵活多变的方式如口头宣教、宣传册、图片、电化教育、操作演练等, 护士应根据患者的特点, 激发患者学习的兴趣; 在教育过程中, 要与患者互动; 对医学知识了解较少、迷信色彩较重的重点干预其求医方式, 对医学知识较丰富的重点干预其疑虑及自卑心理, 对初发病的患者重点干预其对疾病严重性的认识程度及如何配合医生治疗, 对于发生厌恶情绪的患者尽可能地给予情感上的支持, 做好必要的解释工作以提高患者的配合度, 对经济状况不佳的患者, 要平等对待, 适度表达同情和理解, 对缺少家人关心的患者, 要给予更多的关心和照顾, 力所能及帮助患者解决生活上的问题。健康教育后, 对患者进行考核, 评价健康教育的效果。

1.2.5 NK细胞活性的测定: 采用¹²⁵I标记脱氧尿嘧啶核甙(¹²⁵I-UdR)释放法, 常规分离外周血单一核细胞, 加入已用¹²⁵I-UdR(中国科学院原子能研究所出品)标记的K562靶细胞, 效应细胞与靶细胞的比例为100:1, 培养18 h后, 吸取上清液, 用放射免疫γ计数器(西安二六二厂制造, 型号FJ-2021)检测。NK细胞活性(%) = (试验管记数次数/时间 - 自然释放管记数次数/时间) / (最大释放管记数次数/时间 - 自然释放管记数次数/时间) × 100%。

统计学处理 数据采用SPSS13.0统计软件包对所有数据资料进行统计分析, 实验数据以mean ± SD表示; NK细胞活性的比较采用*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 消化性溃疡患者的心理状况调查 消化性溃疡患者SCL-90总分显著高于全国成人常模, 其焦虑、敌对和恐怖症状3个因子分值均高于全国成人常模(*P*<0.05)。差异有统计学意义, 说明消化性溃疡患者的心理健康水平低于普通人群(表1)。

2.2 健康教育前后患者对病情及需关注问题调查表的评定情况 消化性溃疡患者在健康教育后, 患者对疾病知识的了解、遵医服药行为、认为应及时治疗疾病及心理应激能力明显提高, 因疾病紧张恐慌、对药物不良反应的疑虑、对治疗结果不自信的程度明显降低, 说明健康教育对消化性溃疡患者的心理健康可产生重要影响(表2)。

2.3 健康教育前后患者的SAS、SDS评分比较 SDS、SAS评定, 患者健康教育4 wk末均有显著性下降(*P*<0.01), 健康教育可显著降低患者的焦虑抑郁情绪(表3)。

2.4 健康教育前后NK细胞活性的比较 健康教育前患者NK细胞活性为19.31% ± 5.70%, 健康教育后患者为25.25% ± 7.01%, 健康教育前NK细胞活性低于健康教育后患者, 差异有统计学意义(*t* = 3.35, *P*<0.01)。

3 讨论

消化性溃疡是一种病因复杂的慢性身心疾病, 慢性易复发是其显著特点。上腹痛是溃疡病的主要症状, 典型者多位于中上腹部或偏左或偏右, 多呈隐痛、胀痛、饥饿痛或灼痛。节律性疼痛是消化性溃疡的特征性表现, 且与进食有

表 2 健康教育前后患者对病情及需关注问题变化 ($n = 98, n(\%)$)

项目	健康教育前	健康教育后
认为应及时治疗	60(61.0)	88(89.8)
认为不需及时治疗	38(38.8)	10(10.2)
对疾病知识有了解	30(30.6)	96(98.0)
因疾病紧张恐慌	70(71.4)	18(18.4)
对药物不良反应的疑虑	48(49.0)	22(22.5)
改变不良行为方式	76(77.6)	47(48.0)
对治疗结果不自信	21(21.4)	7(7.00)
提高心理应激能力	36(36.7)	75(76.5)
合理饮食遵医嘱服药	76(77.6)	94(95.9)

表 3 SDS、SAS评分变化 (mean \pm SD)

量表	健康教育前	健康教育后	值	P值
SDS	52.85 \pm 10.71	39.18 \pm 11.50	8.69	<0.01
SAS	50.25 \pm 11.54	38.60 \pm 11.11	7.20	<0.01

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表。

一定关系, 十二指肠溃疡疼痛始发于两餐间, 节律疼痛、进食后缓解, 胃溃疡疼痛发生在餐后1 h内, 经1-2 h后逐渐缓解。呈进食-疼痛-缓解。消化性溃疡病可导致严重并发症, 并发症的发展与胃酸的分泌的增加、胃蛋白酶的活性加强、幽门螺杆菌感染、胃十二指肠运动及其他诱发溃疡病的因素等有关^[8]。研究显示, 压抑、紧张均可损伤细胞DNA的自然修复, 严重的心理应激可以使T辅助细胞和/或T杀伤细胞的比值下降、NK细胞数量减少, 降低T细胞和单核细胞的内部反应活性, 导致细胞免疫功能的低下^[9,10]。消化性溃疡属典型的心身疾病, 生活精神因素对消化性溃疡的发生、发展有重要影响。长期精神紧张、焦虑、情绪波动或精神创伤, 易患消化性溃疡, 而且影响溃疡病的发生、发展^[11]。作为一种公认的心身疾病, 在不良的精神状态下可以影响人体的免疫功能, 使得病情长期不愈, 而长期不愈又进一步加重不良情绪, 导致恶性循环^[12]。

消化系统患者总体上生活幸福度不高, 情绪烦躁, 长期易处于一种缺乏快乐、抑郁焦虑的精神状态, 引起机体内分泌功能和神经调节紊乱, 导致胃酸等刺激体液异常释放^[13]。自然杀伤细胞是先天性免疫效应细胞, 约占人外周血淋巴细胞总数的10%-15%, 主要参与免疫监视, 以消除转化细胞和病毒感染细胞, NK细胞表面表

达的相容性复合体- I (major histocompatibility class I, MHC- I) 特异性抑制性受体, 可使NK细胞对表达MHC- I 的正常细胞耐受, 此为丢失自我识别能力的分子基础。由于缺乏抑制性受体的配体, 表面MHC- I 表达下调的肿瘤细胞和病毒感染细胞易受NK细胞攻击^[14], 因此NK细胞是机体抗肿瘤、抗感染的重要免疫因素。通过健康教育, 使患者情绪改善、生活规律、饮食合理并避免过度精神刺激, 对于本病的发作期或缓解期都有重要意义^[15], 并间接提高了NK细胞活性。

总之, 患者多数存在焦虑等不良情绪, 由于他们对医学知识的缺乏, 易导致精神紧张、情绪低沉、恐惧担忧、思想压力大、担忧疾病治愈效果、怕病情反复等。在健康教育下多数患者修正了错误的认知, 明显降低了消化性溃疡的复发率^[16]。由于健康教育指导减轻了患者不良情绪, 间接增加体内NK细胞活性, 在配合药物治疗的基础上可获得较好的治疗效果。本研究提示医务人员在作好患者诊疗的同时, 应根据患者的具体情况开展相对应的健康教育, 加强医学知识宣教, 提高患者的心理应激能力, 改善机体内分泌功能和神经调节, 促进患者的早日康复。

4 参考文献

- 1 邹韶红, 张亚林, 杨世昌. 消化性溃疡心理治疗评述. 临床心身疾病杂志 2006; 12: 236-238
- 2 邓嘉, 李晓敏, 莫焱, 韦荣芬, 王小红, 刘彦. 健康教育对提高消化性溃疡患者遵医行为的研究. 护士进修杂志 2004; 19: 393-395
- 3 郑云娅. 健康教育对消化性溃疡患者治疗依从性的影响. 中国现代医生 2012; 50: 113-114
- 4 叶任高, 陆再英. 内科学. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 384
- 5 汪向东, 王希林, 马弘. 心理卫生评定量表手册. 中国心理卫生杂志 1999(增刊); 33-37: 97-101
- 6 金华, 吴文源, 张明园. 中国正常人SCL-90评定结果的初步分析. 中国神经精神疾病杂志 1986; 12: 260-263
- 7 张明园. 精神科评定量表手册. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998: 35
- 8 韩明华, 孙玉华, 李冬梅. 消化性溃疡患者的健康教育及效果评价. 中国医药指南 2011; 5: 338-339
- 9 Neises M, Nebe T, Schiller A, Ditz S, Wischnik A, Melchert F. [Coping with illness/quality of life and immunologic parameters of patients with breast carcinoma and benign tumors]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 1995; 35 Suppl 1: 166-171 [PMID: 8672920 DOI:10.1159/000272591]
- 10 Song C, Kenis G, van Gastel A, Bosmans E, Lin A, de Jong R, Neels H, Scharpé S, Janca A, Yasukawa K, Maes M. Influence of psychological stress on immune-inflammatory variables in normal humans. Part II. Altered serum concentrations of natural anti-inflammatory agents and soluble membrane antigens of monocytes and T lymphocytes. *Psychiatry Res* 1999; 85: 293-303 [PMID: 10333381]

同行评价

本文对临床具有一定指导意义。

DOI:10.1016/S0165-1781(99)00012-8]

- 11 张玲霞, 张沥, 张欣, 韩坤, 陶梅, 左利平, 庄坤. 个性及心理因素与消化性溃疡发病的关系. 世界华人消化杂志 2004; 12: 226-227
- 12 臧晓鹭. 老年消化性溃疡患者的身心健康状况. 中国老年学杂志 2010; 11: 3370-3371
- 13 刘欣, 郭礼平, 燕雨晴, 赵璨. 消化系统疾病患者生活满意度状况调查探究. 中国健康心理学杂志 2011; 19:

286-287

- 14 王伟强, 李书军. 自然杀伤细胞与癌症-杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)的调控. 中国肺癌杂志 2010; 13: 731-743
- 15 刘秋兰, 申旭琴. 健康教育在消化性溃疡患者中的实施. 中华现代护理杂志 2000; 1: 186-187
- 16 付高洁, 王淑英. 健康教育对消化性溃疡复发的影响. 中国现代医生杂志 2012; 50: 135-136

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

六盘水市行胃镜检查幽门螺旋杆菌感染的调查及防治策略

姚玉龙, 周杰, 梁辉, 胡春晖, 陈冬梅

姚玉龙, 六盘水市人民医院药剂科 贵州省六盘水市 553000
周杰, 六盘水市人民医院胃镜室 贵州省六盘水市 553000
梁辉, 水矿总医院胃镜室 贵州省六盘水市 553000
胡春晖, 六枝特区人民医院胃镜室 贵州省六盘水市 553000
陈冬梅, 六盘水市人民医院消化内科 贵州省六盘水市 553000
姚玉龙, 副主任药师, 主要从事医院药学研究。
作者贡献分布: 周杰主要参与实验设计和论文撰写; 梁辉与胡春晖主要参与数据整理分析; 姚玉龙完成写作; 陈冬梅负责审核。
通讯作者: 周杰, 553000, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 六盘水市人民医院胃镜室. yaoyulong_gy@163.com
收稿日期: 2013-07-05 修回日期: 2013-07-18
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-08-28

Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in patients who underwent gastroscopy from 2010 to 2012 in Liupanshui city

Yu-Long Yao, Jie Zhou, Hui Liang, Chun-Hui Hu, Dong-Mei Chen

Yu-Long Yao, Department of Pharmacy, Liupanshui City People's Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Jie Zhou, Department of Gastroscopy, People's Hospital of Liupanshui City, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Hui Liang, Department of Gastroscopy, General Hospital of Shuiikuang, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Chun-Hui Hu, Department of Gastroscopy, Liuzhi Tequ People's Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Dong-Mei Chen, Department of Internal Medicine, Liupanshui City People's Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China
Correspondence to: Jie Zhou, Department of Gastroscopy, People's Hospital of Liupanshui City, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. yaoyulong_gy@163.com
Received: 2013-07-05 Revised: 2013-07-18
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-08-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in patients who underwent gastroscopy from 2010 to 2012 in Liupanshui city and to discuss its preventive strategies.

METHODS: A total of 59524 patients who underwent endoscopy from 2010 to 2012 in Liupanshui city were retrospectively analyzed to investigate the prevalence of and risk factors for *H. pylori* infection.

panshui were retrospectively analyzed to investigate the prevalence of and risk factors for *H. pylori* infection.

RESULTS: The positive rate of *H. pylori* increased gradually with age. The positive rates of *H. pylori* in different gastric lesions were different. Ulcer disease, gastric cancer and chronic atrophic gastritis had significantly higher positive rates ($\chi^2 = 12.41$, $P < 0.05$). The risk factors for *H. pylori* infection included age ($\beta = 0.679$, S.E. = 0.334, Wald = 14.203, OR = 1.989, $P < 0.05$), gender ($\beta = 0.564$, S.E. = 0.432, Wald = 16.353, OR = 1.868, $P < 0.05$), diet ($\beta = 0.546$, S.E. = 0.449, Wald = 17.293, OR = 1.787, $P < 0.05$), drinking habit ($\beta = 0.673$, S.E. = 0.308, Wald = 15.203, OR = 1.592, $P < 0.05$), family size ($\beta = 0.599$, S.E. = 0.364, Wald = 18.727, OR = 1.329, $P < 0.05$), living conditions ($\beta = 0.653$, S.E. = 0.362, Wald = 15.363, OR = 1.363, $P < 0.05$), and rearing animals ($\beta = 0.692$, S.E. = 0.388, Wald = 15.305, OR = 1.565, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The positive rate of *H. pylori* infection in patients who underwent gastroscopy in Liupanshui is high, suggesting that *H. pylori* infection is closely related with the occurrence of gastric ulcer and gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori* infection; Liupanshui city; Risk factors

Yao YL, Zhou J, Liang H, Hu CH, Chen DM. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in patients who underwent gastroscopy from 2010 to 2012 in Liupanshui city. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2485-2489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2485.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2485>

摘要

目的: 统计2010-2012年六盘水市行胃镜检查幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染状况, 并讨论其防治策略。

方法: 回顾性分析六盘水市2010-2012年行胃镜检查的患者59524例, 通过*H. pylori*染色病

■背景资料

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)在人群中感染率较高, 是造成慢性胃炎、胃十二指肠溃疡、胃恶性肿瘤等疾病的重要因子, 亦被WHO确定为诸多I类致癌原之一。六盘水市海拔较高, 所处地理位置、气候环境、饮食习惯与全国其他地区有一定区别, 故筛查患者是否感染*H. pylori*, 既可消除感染, 又能预防包括胃癌在内的诸多消化系统疾病的发生, 在临床上具有重要意义。

■同行评议者

王蔚虹, 教授, 主任医师, 北京大学第一医院消化内科

■ 研发前沿

*H. pylori*感染会升高某些特发性疾病的发生率,包括特发性血小板减少性紫癜、慢性荨麻疹、心脑血管疾病、糖尿病等。故阻断*H. pylori*感染或杀灭*H. pylori*对以上诸多疾病的防治,有着重要的临床意义。

理学诊断,统计分析不同年龄段、不同胃部疾患中*H. pylori*感染状况,*H. pylori*感染相关因素多元Logistic回归分析以及三联疗法治疗*H. pylori*效果分析。

结果:在各年龄段中*H. pylori*的阳性率不同,呈现*H. pylori*阳性率随年龄上升而增高的趋势,而不同胃部疾患*H. pylori*阳性率亦不同,其中阳性率较高的有溃疡病、胃癌与慢性萎缩性胃炎,各组两两比较(除慢性萎缩性胃炎与胃癌外),差异均具有统计学意义($\chi^2 = 12.41, P < 0.05$)。*H. pylori*感染的相关因素为年龄($\beta = 0.679, \text{S.E.} = 0.334, \text{Wald} = 14.203, \text{OR} = 1.989, P < 0.05$)、性别($\beta = 0.564, \text{S.E.} = 0.432, \text{Wald} = 16.353, \text{OR} = 1.868, P < 0.05$)、饮食习惯($\beta = 0.546, \text{S.E.} = 0.449, \text{Wald} = 17.293, \text{OR} = 1.787, P < 0.05$)、饮水习惯($\beta = 0.673, \text{S.E.} = 0.308, \text{Wald} = 15.203, \text{OR} = 1.592, P < 0.05$)、家庭人员数($\beta = 0.599, \text{S.E.} = 0.364, \text{Wald} = 18.727, \text{OR} = 1.329, P < 0.05$)、居住条件($\beta = 0.653, \text{S.E.} = 0.362, \text{Wald} = 15.363, \text{OR} = 1.363, P < 0.05$)、养家畜($\beta = 0.692, \text{S.E.} = 0.388, \text{Wald} = 15.305, \text{OR} = 1.565, P < 0.05$)等5个因素。

结论:六盘水市行胃镜患者*H. pylori*感染率较高,与溃疡病胃癌等发病关系密切,须重视*H. pylori*的预防工作。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 幽门螺杆菌感染; 六盘水市; 危险因素

核心提示:六盘水市海拔较高,所处地理位置、气候环境、饮食习惯与全国其他地区有一定区别,故筛查患者是否感染幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*),既可消除感染,又能预防包括胃癌在内的诸多消化系疾病的发生,在临床上有重要意义。本研究对2010-2012年六盘水市行胃镜检查的患者59524例进行统计,分析其*H. pylori*感染率,为临床预防和诊治提供参考。

姚玉龙, 周杰, 梁辉, 胡春晔, 陈冬梅. 六盘水市行胃镜检查幽门螺旋杆菌感染的调查及防治策略. 世界华人消化杂志 2013; 21(24): 2485-2489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2485.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i24.2485>

0 引言

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)在人群中感染率较高,是造成慢性胃炎、胃十二指肠溃疡、胃恶性肿瘤等疾病的重要因子,亦被WHO确定为诸多I类致癌原之一^[1,2]。研究表

明^[3],*H. pylori*感染的患者其胃癌发病率较无*H. pylori*感染的患者高两倍以上。六盘水市海拔较高,所处地理位置、气候环境、饮食习惯与全国其他地区有一定区别,故筛查患者是否感染*H. pylori*,既可消除感染,又能预防包括胃癌在内的诸多消化道疾病的发生,在临床上有重要意义。本研究对2010-2012年六盘水市行胃镜检查的患者59524例进行统计,分析其*H. pylori*感染率,为临床预防和诊治提供参考,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析六盘水市2010-2012年因胃炎、胃溃疡行胃镜检查的患者59524例次(包括复查病例),所有患者均知情同意,病理活检取6-8块,由病理科丰富经验的医师进行*H. pylori*感染诊断。本次试验经伦理委员会通过,所有病例来自六盘水市人民医院(三甲)、水矿总医院(三甲)、六枝特区人民医院(二甲)、六盘水协和医院、水城县人民医院、盘县特区人民医院,覆盖范围广,病例具有地区特点。全部的59524例胃镜患者中,男31157例,女28367例,年龄7-82岁,平均年龄40.6岁 \pm 12.3岁。其中<20岁5187例,20-39岁18754例,40-59岁25583例, ≥ 60 岁10000例。按病程长短分类,3 mo共内8597例,3 mo-1年共26470例,1年-10年共23416例,10年以上共1041例,最长者39年。

1.2 方法 全部患者经问诊与查体后,建议做胃镜检查,在取得患者知情同意后,镜下取病理活检取6-8块,由病理科丰富经验的医师进行*H. pylori*感染诊断,统计*H. pylori*感染状况。按不同年龄段,分别统计其*H. pylori*阳性例数、阴性例数与阳性率;同时按胃部疾患的不同,分别统计其*H. pylori*阳性例数、阴性例数与阳性率。25152例使用A组奥美拉唑20 mg+阿莫西林1000 mg+克拉霉素500 mg bid; 15532例使用B组泮托拉唑20 mg+阿莫西林1000 mg+克拉霉素500 mg bid; 18840例使用C组雷贝拉唑10 mg+阿莫西林1000 mg+克拉霉素500 mg bid。观察各三联疗法治疗*H. pylori*疗效。评价标准:治疗结束后4、8 wk时重复做¹⁴C呼气试验^[4],以确定*H. pylori*是否根除。复查¹⁴C呼气试验2次均为阴性,可确认*H. pylori*已根除。

统计学处理 使用SPSS14.0对结果进行统计,结果统一以mean \pm SD表示,计数资料使用 χ^2 检验。检验标准取 $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 不同年龄段幽门螺杆菌阳性率的差异

年龄段	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
<20岁	5187	2634	2553	50.8
20-39岁	18754	14636	4118	78.0
40-59岁	25583	23235	2348	90.8
≥60岁	10000	9124	876	91.2
合计	59524	49629	9895	83.4

■相关报道

现普遍认为, *H. pylori*的感染者是重要传染源, 其传播途径包括粪-口传播或口-口传播, 亦应重视因医源性操作不当(如胃镜)所致*H. pylori*传染的可能性。

表 2 不同胃部疾患幽门螺杆菌阳性率的差异

胃部疾患	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
慢性浅表性胃炎	41150	21201	19949	51.521
慢性萎缩性胃炎	4620	3301	1319	71.450
胃癌	2110	1678	432	79.526
胃溃疡	3327	2983	344	89.660
十二指肠溃疡	4211	3739	472	88.791
复合型溃疡	1180	1180	0	100.000
其他	1916	1141	775	59.551

表 3 幽门螺杆菌感染相关因素多元Logistic回归分析结果

影响因素	β	S.E.	Wald	<i>P</i> 值	OR(95%CI)
年龄	0.679	0.334	14.203	<0.05	1.989(1.77-2.36)
性别	0.564	0.432	16.353	<0.05	1.868(1.57-2.16)
饮食习惯	0.546	0.449	17.293	<0.05	1.787(1.54-2.38)
饮水习惯	0.673	0.308	15.203	<0.05	1.592(1.22-2.14)
家庭人员数	0.599	0.364	18.727	<0.05	1.329(1.15-1.77)
居住条件	0.653	0.362	15.363	<0.05	1.363(1.11-2.52)
养家畜	0.692	0.388	15.305	<0.05	1.565(1.12-2.00)

2 结果

2.1 不同年龄段*H. pylori*阳性率的差异 在不同年龄段*H. pylori*的阳性率不同, 其中最高者为≥60岁组, 然后依次为40-59岁组、20-39岁组、<20岁组, 除≥60岁组与40-59岁组, 其余各组两两比较, 差异均具有统计学意义($P<0.05$, 表1)。

2.2 不同胃部疾患*H. pylori*阳性率的差异 不同胃部疾患*H. pylori*阳性率不同, 其中*H. pylori*阳性率较高的有消化性溃疡(胃溃疡、十二指肠溃疡、复合溃疡)、胃癌与慢性萎缩性胃炎, 其阳性率均高于88%, 尤其是复合型溃疡, 阳性率高达100%。各组两两比较, 除慢性萎缩性胃炎与胃癌外, 其余各组间差异均具有统计学意义($P<0.05$, 表2)。

2.3 *H. pylori*感染相关因素多元Logistic回归分析 由表3可知, *H. pylori*感染的相关因素为年龄、性别、饮食习惯、饮水习惯、家庭人员数、居

住条件、养家畜等6个因素($P<0.05$)。

2.4 三联疗法治疗*H. pylori*效果分析 A组*H. pylori*根除率87.08%(21900/25152), B组*H. pylori*根除率92.00%(14290/16632), C组*H. pylori*根除率89.78%(16915/18840), 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

六盘水市行胃镜检查患者*H. pylori*感染率较高, 而*H. pylori*感染被认为是消化性溃疡、胃癌等高危因素, 也是细菌感染能引起恶性肿瘤的有力证明。研究发现^[5], *H. pylori*定植于胃黏膜表面, 其合成的毒素等刺激黏膜发生炎症反应与免疫应答, 使得胃黏液-碳酸氢盐屏障与胃黏膜屏障受损, 经一系列机制引起胃酸分泌过多, 产生破坏作用, 易引起消化性溃疡。而*H. pylori*长时间感染所致的慢性炎症, 反复增生易引发基因突变,

■应用要点

六盘水市行胃镜检查患者*H. pylori*感染率较高,与溃疡病胃癌等发病关系密切,须重视*H. pylori*的预防工作。

打破原癌基因与抑癌基因的平衡,从而诱发恶性肿瘤。资料显示^[6],*H. pylori*感染会升高某些特发性疾病的发生率,包括特发性血小板减少性紫癜、慢性荨麻疹、心脑血管疾病、糖尿病等。故阻断*H. pylori*感染或杀灭*H. pylori*对以上诸多疾病的防治,有着重要的临床意义。

本研究对59524例胃镜患者进行*H. pylori*感染统计,发现在不同年龄段*H. pylori*的阳性率不同,呈现*H. pylori*阳性率随年龄增加而增高的趋势,年轻人(<20岁)感染率为50.8%,而60岁以上者感染率为91.2%,提示机体在环境中暴露时间越长*H. pylori*感染可能性越高。不同胃部疾患*H. pylori*阳性率不同,消化性溃疡*H. pylori*阳性率最高,尤其是复合性溃疡为100%,高度提示溃疡病与*H. pylori*感染有密切关联。胃癌与慢性萎缩性胃炎(被认为癌前病变)*H. pylori*阳性率也高于70%,验证了胃恶性肿瘤的发生与*H. pylori*感染有一定联系。故在青少年中做好*H. pylori*的预防工作极为重要,不仅降低其消化性溃疡的发病率,还能减少恶性肿瘤的累积效应^[7]。

现普遍认为^[8],*H. pylori*的感染者是重要传染源,其传播途径包括粪-口传播或口-口传播,亦应重视因医源性操作不当(如胃镜)所致*H. pylori*传染的可能性。*H. pylori*具有高传染力与高生存力的特性^[9],借由握手、抓取食物、共用污染餐具等途径感染易感人群。因此,首先应做好*H. pylori*的教育宣传工作,可开展预防*H. pylori*感染的健康巡讲,提高对*H. pylori*认识程度,树立抗菌防病的信心;其次,家庭中若有*H. pylori*感染者,需预防日常接触传染,提倡饮食分餐制,减少因共用餐具导致*H. pylori*传播概率。养成健康的生活习惯,饭前便后注意手部清洁,饮食要注意定时定量,不进食不洁食物,注意口腔卫生,定期对餐具进行高温消毒。尽量保持年度健康体检,考虑*H. pylori*感染快速检测,若发现*H. pylori*阳性或是体检发现胃部疾患,尽早就诊,早期治疗,依照根治*H. pylori*方案^[10-12],在临床医生指导下,进行*H. pylori*根除治疗。同时更要提高基层医院医生对*H. pylori*感染的认识,加强对患者的宣传和教育的宣传,严格掌握根除*H. pylori*的适应证和根除*H. pylori*的方案,规范用药,根据患者的具体情况选用适当的药物组合,提高首次根除率,减少因不规范用药导致的耐药性增高而首次根除率下降的现象,并且要充分争取患者的配合,严格按医嘱服药,确保根除效果。目前基层医院不规范用药,甚至乱用药的现象较

为严重,导致较多需要根除*H. pylori*的患者没有得到及时治疗,也成为了一个相对长期的传染源。在胃镜下常常发现胃、十二指肠溃疡患者在复查时溃疡已完全愈合,但*H. pylori*仍呈强阳性的现象,故说明在*H. pylori*的治疗方面还存在较大的问题,需要加强基层医院医生的培训,规范*H. pylori*的治疗^[13-15]。本例研究中*H. pylori*感染的相关因素为年龄、性别、饮食习惯、饮水习惯、家庭人员数、居住条件、养家畜等6个因素($P<0.05$)。3种三联疗法治疗*H. pylori*疗效差别不显著,总有效率均高于85%,疗效可靠。人们若生活中自觉出现胃部不适,或是胃痛胃胀、反酸暖气等*H. pylori*感染疑似情况,需及时到正规医院进行胃镜检查,做到早发现、早诊断、早治疗,将胃癌等恶性肿瘤扼杀在早期。对于*H. pylori*的检测更应该纳入体检项目在普通人群中进行筛查,对于阳性患者根据其是否有消化道一般性症状或消化系统报警症状而采取有效的防治措施,对改善预后有着极为重要意义。不过,目前*H. pylori*在我国有较高的感染率,根据目前根除*H. pylori*的共识意见也不是对所有阳性病例都需要根除,故加强人们对其正确认识,不必因*H. pylori*感染引起过大的心理负担和恐慌。

总之,六盘水市行胃镜检查患者*H. pylori*感染率较高,与溃疡病胃癌等发病关系密切,须重视*H. pylori*的预防工作。

4 参考文献

- 1 周虹,吕农华. 幽门螺杆菌与消化性溃疡并出血的研究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1063-1066
- 2 吴改玲,蓝宇,张小晋. 序贯疗法和标准三联疗法根除幽门螺杆菌的疗效比较. 世界华人消化杂志 2011; 19: 757-759
- 3 陈莫耶,宫月华,袁媛. 不同胃疾病来源幽门螺杆菌菌株PPIase编码基因分布频率及其意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 353-358
- 4 张喜梅,张振玉. 左氧氟沙星联合雷贝拉唑及果胶铋治疗幽门螺杆菌的疗效. 世界华人消化杂志 2010; 18: 646-649
- 5 杨佳丽,赵清喜. 序贯疗法治疗幽门螺杆菌根除失败患者的疗效. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1242-1245
- 6 Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsuhisa T, Matsukura N. Helicobacter pylori infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer. World J Gastroenterol 2005; 11: 791-796 [PMID: 15682469]
- 7 陈莫耶,袁媛. 幽门螺杆菌不同感染阶段的相关毒力因子及其致病性. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1011-1012
- 8 张贺军,崔荣丽,金珠. 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1024-1025
- 9 邓敏,靖大道. 胃黏蛋白在抗幽门螺杆菌感染中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 786-789

- 10 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告. 中华医学杂志 2008; 88: 652-655
- 11 柳云恩, 袁媛. 蒙古沙土鼠不同幽门螺杆菌菌株感染相关性胃病的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2323-2327
- 12 章阳, 郑文斌, 黄美云. 成都市居民幽门螺旋杆菌感染状况分析. 华西医学 2009; 24: 2033-2034
- 13 全甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21: 474-479
- 14 Wroblewski LE, Peek RM. "Targeted disruption of the epithelial-barrier by *Helicobacter pylori*". *Cell Commun Signal* 2011; 9: 29 [PMID: 22044698]
- 15 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2424-2427

■同行评价

本研究对当地 *H. pylori* 感染进行调查分析, 对临床医师有一定的参考价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

阿司匹林相关性小肠溃疡致消化系出血、巨幼细胞贫血1例

王柏清, 李甜甜, 孙光斌

■背景资料

近来随着非甾体类抗炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)应用越来越多, NSAIDs相关性肠病逐渐引起人们的重视. 随着对NSAIDs相关性肠病的研究深入, 人们逐渐认识到长期应用NSAIDs所引起的相关性肠病是小肠溃疡的一个重要原因. 维生素B₁₂主要在回肠末端吸收, 回肠末端的多发溃疡可能会影响维生素B₁₂的吸收, 进而引起巨幼细胞贫血.

■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

王柏清, 李甜甜, 孙光斌, 天津市第五中心医院消化科 天津市 300450

王柏清, 硕士, 主要从事小肠疾病、胃癌发病机制方面的研究.

作者贡献分布: 本论文写作由王柏清与李甜甜共同完成; 资料收集由孙光斌与王柏清共同完成.

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市塘沽区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化科. sun19660901@sina.com

收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-08-28

Aspirin-associated small intestinal ulcer with severe anemia as the first manifestation: A case report

Bai-Qing Wang, Tian-Tian Li, Guang-Bin Sun

Bai-Qing Wang, Tian-Tian Li, Guang-Bin Sun, Department of Gastroenterology, Tianjin Fifth Central Hospital, Tianjin 300450, China

Correspondence to: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, 41 Zhejiang Street, Tanggu District, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-08-28

Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most widely used medications for treating inflammatory conditions. Recently, they are also used to prevent the progression of cardiovascular disease and the pain of muscle, bones and arthrosis. However, long-term and generous use of NSAIDs may cause mucosal injury in the stomach and duodenum. Investigation of the correlation between NSAIDs and bowel enteropathy reveals that long-term application of NSAIDs play an important role in the development of small intestinal ulcers. Here we report a case of small intestinal ulcer with severe anemia as the first manifestation in a patient with long-term aspirin use. Blood and bone marrow examinations revealed megaloblastic anemia, and capsule endoscopy demonstrated small intestinal ulcer. Clinicians should improve the diagnosis and treatment of similar cases to avoid misdiagnosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Aspirin; Small intestinal ulcers; Aspirin-related intestinal diseases

Wang BQ, Li TT, Sun GB. Aspirin-associated small intestinal ulcer with severe anemia as the first manifestation: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(24): 2490-2492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2490>

摘要

近几十年来随着非甾体类抗炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)应用越来越多, NSAIDs相关性肠病逐渐引起人们的重视. 随着对NSAIDs相关性肠病的研究深入, 人们逐渐认识到长期应用NSAIDs所引起的相关性肠病是小肠溃疡的一个重要原因. 本文报道了1例长期服用阿司匹林的患者, 以重度贫血为首发症状, 血液及骨髓检查提示巨幼细胞贫血, 胶囊内镜诊断为小肠溃疡. 临床医生应提高对类似病例的认识和诊疗思路, 避免误诊.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 阿司匹林; 小肠溃疡; 非甾体类抗炎药物相关性肠病

核心提示: 长期服用阿司匹林, 可引起胃肠道损害, 出现小肠溃疡, 导致消化系出血、失血性贫血; 而回肠末端的多发溃疡, 由于维生素B₁₂主要在回肠末端吸收, 可引起维生素B₁₂吸收障碍, 导致巨幼细胞贫血, 出现严重贫血.

王柏清, 李甜甜, 孙光斌. 阿司匹林相关性小肠溃疡致消化系出血、巨幼细胞贫血1例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(24): 2490-2492 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i24.2490>

0 引言

非甾体类抗炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是许多国家最常使用的药物之一. 长期大量使用常引起胃十二指肠黏膜损害. 近年来随着胶囊内镜以及双气囊小肠镜等



图1 回肠末端内镜下表现. A: 结肠镜示末端回肠2处溃疡; B: 胶囊内镜示末端回肠多发溃疡; C: 胶囊内镜示末端回肠多发溃疡.

检查方式在临床的进一步普及,发现NSAIDs引起的小肠不良反应也并不低.现将我院收治的1例患者病例报告如下.

1 病例报告

男,47岁,主因周身乏力20 d入院,既往糖尿病史,有冠心病病史,口服阿司匹林治疗2年;有胆囊切除术病史;素进食量可,否认偏食.患者入院前20 d,无明显诱因出现周身乏力,有头晕、心悸,偶有胸闷、憋气,自诉间断“褐色便”,有双下肢麻木.无恶心、呕吐、呕血,无腹痛、腹胀,无反酸、烧心.进食尚可,睡眠可,体质量无明显变化.查体:神清,精神尚可,呼吸平稳,重度贫血貌,巩膜轻度黄染,浅表淋巴结未及肿大,口唇无发绀,口腔黏膜、舌乳头萎缩.双肺听诊呼吸音清,心音有力,律齐,心率90次/min,腹软,无压痛,肝肋下未及,脾肋下2 cm可触及,质软,无压痛,双下肢不肿,四肢肌力正常,Babinski征阴性.血白细胞 $3.33 \times 10^9/L$,血红蛋白51 g/L,血小板 $86 \times 10^9/L$.腹部彩超:肝实质回声轻度增粗,脾脏增大.胸片:动脉硬化.

入院初步诊断:贫血原因待查:失血性贫血?再生障碍性贫血?营养性贫血?溶血性贫血?考虑患者自诉有间断褐色便,血常规提示三系减少,故从消化系统疾病、血液系统疾病两条线索对患者病情进行诊疗.消化系统:(1)血红蛋白:2013-02-14,51 g/L,予输悬浮红细胞4个单位纠正贫血;2013-02-14,复查血红蛋白69 g/L;2013-02-16,便潜血(-);2013-02-21,患者排不成形黑便1次,量约50 mL,查便潜血(+),复查血红蛋白49 g/L,予输悬浮红细胞4个单位纠正贫血;2013-02-24、26、28,复查便潜血均阴性;2013-03-01,复查血红蛋白78 g/L;(2)总胆红素 $38.7 \mu\text{mol/L}$,直接胆红素 $32.5 \mu\text{mol/L}$,谷丙转

氨酶16 U/L,乳酸脱氢酶1682 U/L,C反应蛋白24.3 mg/L,血沉33 mm/h,防癌4项未见异常,甲功3项未见异常,自免肝系列抗体均阴性,免疫全项、风湿免疫全项均阴性,Coomb's实验阴性,胃酸、胃泌素、内因子抗体均阴性;(3)胃镜示慢性胃炎伴糜烂,病理示慢性中度萎缩性胃炎伴灶状肠化;结肠镜示末端回肠多发溃疡,病理示符合活动性溃疡病变,未见肉芽肿、寄生虫、肿瘤(图1A);胶囊内镜示慢性胃炎伴糜烂,回肠末端多发性溃疡(图1B,C).血液系统:(1)血常规:白细胞 $3.33 \times 10^9/L$,血红蛋白51 g/L,血小板 $86 \times 10^9/L$,网织红细胞计数 $0.0213 \times 10^9/L$,百分比1.11%,平均红细胞体积107.9 fL,平均红细胞血红蛋白40.5 pg,平均红细胞血红蛋白浓度375 g/L(2013-02-14);白细胞 $2.92 \times 10^9/L$,血红蛋白69 g/L,血小板 $56 \times 10^9/L$ (2013-02-05);白细胞 $5.04 \times 10^9/L$,血红蛋白49 g/L,血小板 $55 \times 10^9/L$ (2013-02-23);白细胞 $4.79 \times 10^9/L$,血红蛋白78 g/L,血小板 $182 \times 10^9/L$,网织红细胞计数 $0.1129 \times 10^9/L$,百分比4.59%(2013-03-1);(2)维生素B₁₂30 pmol/L,叶酸9.60 nmol/L;(3)骨髓涂片:骨髓粒、红系增生活跃骨髓象,粒、红系轻度病态造血,建议:首先查叶酸、维生素B₁₂除外巨幼细胞贫血;骨髓活检:骨髓有核细胞增生极度活跃,粒红比例增高,粒系以偏成熟细胞为主,红系以中晚幼细胞为主,未见原始细胞;流式细胞学:未检测到明显急性白血病、高危骨髓增生异常综合征相关免疫表型异常证据,高敏PNH流式细胞未检测到PNH克隆.诊疗思路:患者有长期服用阿司匹林病史,血液及骨髓检查提示具有细胞贫血,胶囊内镜提示回肠末端溃疡.考虑患者长期服用阿司匹林,引起回肠末端多发溃疡,导致消化系出血;由于维生素B₁₂主要在回肠末端吸收,引起维生素B₁₂吸收障碍,导致巨幼细胞贫血.诊

■研发前沿

NSAIDs相关性肠病目前逐渐引起重视,在NSAIDs肠病的发病机制中,肠黏膜通透性增高是NSAIDs肠病的起始环节,多见于小肠黏膜溃疡形成之前,但尚缺乏NSAIDs肠病的早期诊断和药物防治方法.因此,需要选择合适的NSAIDs肠病模型对NSAIDs相关性肠病的发病机制进行研究是目前的一个热点.

■相关报道

NSAIDs相关肠病可累及胃肠道的任何部分,其中胃及小肠是最容易受累.发病机制主要有三重打击学说:环氧合酶介导的炎症机制、NSAID的肝肠循环、免疫机制、微循环障碍,肠道动力异常等.诊断依据主要根据用药史,小肠镜或胶囊内镜提示小肠黏膜病变,若同时存在低蛋白血症或回肠吸收功能障碍则高度提示;若停用NSAID后正常明显改善则可以诊断NSAID相关性肠病.

■创新盘点

阿司匹林相关性小肠溃疡致消化道出血病例已经较多报道,但阿司匹林引起回肠末端溃疡,从而导致严重的巨幼红细胞性贫血的病例很少。本例患者经停用阿司匹林,补充维生素B₁₂、叶酸等治疗后,病情明显好转,复查胶囊内镜回肠末端溃疡消失。对于长期服用阿司匹林以严重贫血为首发症状的患者,临床医生应提高对类似病例的认识和诊疗思路,避免误诊。

疗计划: (1)患者入院后查心电图、心脏彩超未见明显异常,请心内科会诊,可长期停用阿司匹林; (2)维生素B₁₂ 100 μg肌注 1次/d, 2 wk后改100 μg肌注 2次/wk, 4 wk后予口服维生素B₁₂ 0.5 mg tid, 服用1年; 叶酸10 mg tid直至血红蛋白正常; (3)予埃索美拉唑、磷酸铝凝胶抑酸、保护胃肠黏膜; (4)定期复查血常规、网织红细胞、贫血3项、胃镜、肠镜、胶囊镜。患者于2013-03-09出院,出院诊断: 巨幼细胞贫血, 小肠多发性溃疡, 糜烂性胃炎, 冠状动脉粥样硬化性心脏病, 2型糖尿病。出院后1 mo内, 每周复查血常规, 血红蛋白逐渐升高; 2013-04-02复查血常规: 血红蛋白138 g/L, 网织红细胞计数、百分比正常; 肝功能、C-反应蛋白、血沉正常。复查胶囊内镜: 未见明显异常。

2 讨论

近几十年来随着NSAIDs应用越来越多, NSAIDs相关性肠病逐渐引起人们的重视。随着对NSAIDs相关性肠病的研究深入, 人们逐渐认识到慢性NSAIDs应用所引起的相关肠病是小肠溃疡的一个重要原因。研究发现, 短期或长期应用NSAIDs均可引起胃肠道的损害, 但通常认为NSAIDs连续应用1 mo以上更容易出现NSAIDs相关肠病。NSAIDs相关肠病可累及胃肠道的任何一部分, 包括从食道到直肠, 其中胃及小肠是最容易受累及的部位。NSAIDs相关肠病的治疗比较困难, 最好是停用NSAIDs。NSAID相关性小肠黏膜损伤是一个逐步发生的过程, 其发生机制主要有: (1)三重打击学说^[1-3]: NSAID结构中的酸性部分直接损伤肠上皮细胞的膜磷脂, 使其氧化磷酸化解耦联, 而损伤线粒体; 线粒体损伤导致细胞能量耗竭、钙离子超载及大量自由基产生, 破坏了细胞间结构的完整性, 使肠黏膜通透性增加; 受损的肠黏膜屏障易受各种肠内容物, 包括胆汁、食物、细菌及各种酶的进一步损伤; (2)与上消化道损伤作用不同, 环氧合酶(cyclooxygenase, COX)介导的机制在其发病过程中可能不是十分重要^[4]。COX存在两种同工酶, 即COX-1和COX-2。以前曾认为, COX-1是生理性酶, 主要在胃肠、肾、内皮细胞和血小板中表达, 由他催化产生的前列腺素(prostaglandin, PG)参与机体正常的生理过程和保护作用。在正常情况下, COX-2表达水平低, 在致炎因子的刺激下, 其表达明显增加, 产生的PG

参与炎症反应。然而, 近年的研究发现, COX-1和COX-2并非有理论上的严格界限, COX-1缺陷小鼠并不出现胃肠黏膜损伤, 但给予非选择性COX抑制剂却产生损害, 这提示COX-1并非是唯一产生保护性PG的酶。COX-2缺陷小鼠亦可诱发实验性结肠炎, 选择性COX-2抑制剂可使病变加重; (3)NSAID的肝肠循环在NSAID相关性肠病的发病机制中也扮演了重要的角色; (4)免疫机制, 微循环障碍, 肠道动力异常等。诊断依据: 主要根据用药史、临床表现及相关检查。服用NSAID后出现消化系出血、消化不良等表现, 胃镜及结肠镜检查未见明显异常; 小肠镜或胶囊内镜提示小肠黏膜病变, 如炎症、红斑、糜烂、溃疡等, 严重者可出现狭窄; 若同时存在低蛋白血症或回肠吸收功能障碍则高度提示NSAID肠病; 若停用NSAID后正常明显改善则可以诊断NSAID相关性肠病^[5]。药物治疗主要有: 质子泵抑制剂、H₂受体拮抗剂、黏膜保护剂、前列腺素类似物等^[6,7]。

本例患者考虑为长期服用阿司匹林, 引起回肠末端多发溃疡, 导致消化系出血; 同时由于维生素B₁₂主要在回肠末端吸收, 引起维生素B₁₂吸收障碍, 导致巨幼细胞贫血。经停用阿司匹林, 补充维生素B₁₂、叶酸, 口服埃索美拉唑、磷酸铝凝胶治疗后, 病情明显好转, 复查胶囊内镜回肠末端溃疡消失。临床医生应提高对类似病例的认识和诊疗思路, 避免误诊。

3 参考文献

- 1 Fortun PJ, Hawkey CJ. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 134-141 [PMID: 17268241]
- 2 Bjarnason I, Takeuchi K, Simpson R. NSAIDs: the emperor's new dogma? *Gut* 2003; 52: 1376-1378 [PMID: 12912873 DOI: 10.1136/gut.52.9.1376]
- 3 Jacob M, Bjarnason I, Simpson RJ. Effects of indomethacin on energy metabolism in rat and human jejunal tissue in vitro. *Clin Sci (Lond)* 2001; 101: 493-498 [PMID: 11672454]
- 4 Whittle BJ. Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 427-439 [PMID: 15464050 DOI: 10.1016/j.ejphar.2004.07.042]
- 5 韩伟, 韩英. 非甾体类抗炎药与胃肠道损伤. *世界华人消化杂志* 1998; 6: 351-354
- 6 栾好波. 非甾体类抗炎药物对胃肠道损伤机制及预防. *齐鲁药事* 2007; 26: 297-299
- 7 Hansen JM, Bytzer P. [Prevention of NSAID induced gastroduodenal ulcers]. *Ugeskr Laeger* 2001; 163: 6103-6105 [PMID: 11715151 DOI: 10.1002/14651858.CD002296]

■同行评价

本文对NSAIDs相关性肠病的诊治具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象、应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈光 教授
吉林大学第一医院

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

何向辉 教授
天津医科大学总医院

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

李炎 副研究员
中山大学肿瘤防治中心, 华南肿瘤学国家重点实验室

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

刘正稳 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

虞必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

王蔚虹 教授
北京大学第一医院

吴建兵 教授
南昌大学第二附属医院

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

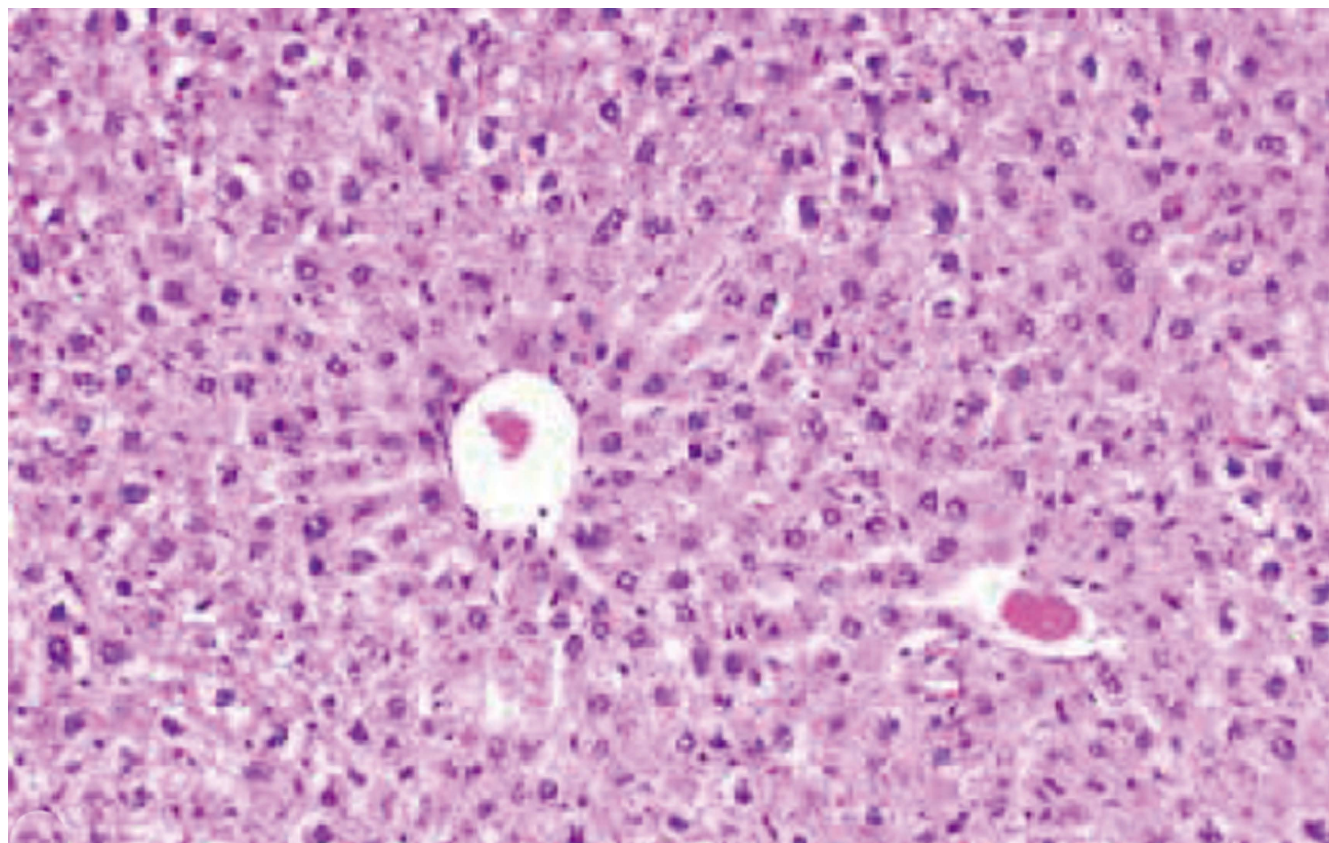


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 9 月 8 日 第 21 卷 第 25 期 (Volume 21 Number 25)



25 / 2013

ISSN 1009-3079



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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年9月8日 第21卷 第25期 (总第429期)

述 评	2493 血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系 魏蕊, 杨进, 洪天配
基础研究	2500 循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义 彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义
临床研究	2508 TGF- β 在肝细胞癌转移中的作用 张颖慧, 董向前, 邹玉, 乌剑利, 白丽萍, 刘晶华, 王敏 2515 人大肠癌癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异 吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时 2522 白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义 刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春
文献综述	2530 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展 徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤 2537 重度胃轻瘫治疗方式的研究进展 李君玲, 仝小林, 田佳星, 逢冰, 周强, 李敏 2544 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义 唐劫, 卢洁, 闫惠平 2551 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展 谭全会, 李兴华 2557 CD24与结直肠癌多层面关联的研究进展 刘伊雯, 房静远
研究快报	2563 艾灸对 <i>Helicobacter pylori</i> 胃炎大鼠单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量的影响 林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲 2571 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响 林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟 2578 十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响 彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义 2585 兔肛门直肠三维有限元模型的建立 柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄
临床经验	2590 胃息肉的临床病理特征分析460例 冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义 2594 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析 马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林 2601 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义 珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚 2606 胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达 林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青 2611 临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征 周思远, 刘婷, 覃海知, 李 璵 2617 腹腔淋巴管瘤临床分析18例 李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪 2620 儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性 刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰
病例报告	2623 肝糖原累积病1例 左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2499 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2507 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2529 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2536 《世界华人消化杂志》正文要求 2543 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2556 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2570 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2584 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2605 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2610 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2626 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟. 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2571-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/25/2571.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2571
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-09-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 25

EDITORIAL	2493 Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation <i>Wei R, Yang J, Hong TP</i>
BASIC RESEARCH	2500 Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells <i>Peng F, Wang M, Jiang JX, Tian R, Li X, Xu M, Guo XJ, Qin RY</i>
CLINICAL RESEARCH	2508 Role of TGF- β in metastasis of hepatocellular carcinoma <i>Zhang YH, Dong XQ, Zou Y, Wu JL, Bai LP, Liu JH, Wang M</i> 2515 DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions <i>Wu LY, Wen B, Hu FL, Liu JY, Fu DS</i> 2522 Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma <i>Liu KL, Yu RJ, Wu J, Lin XC</i>
REVIEW	2530 Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia <i>Xu QQ, Zhang YL, Yao SK</i> 2537 Treatments for severe gastroparesis <i>Li JL, Tong XL, Pang B, Tian JX, Zhou Q, Li M</i> 2544 Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease <i>Tang J, Lu J, Yan HP</i> 2551 Progress in understanding the relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders <i>Tan QH, Li XH</i> 2557 Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer <i>Liu YW, Fang JY</i>
RAPID COMMUNICATION	2563 Effect of moxibustion treatment on expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes of rats with <i>Helicobacter pylori</i> -associated gastritis <i>Lin YP, Feng YS, Yi SX, Peng Y, Shi DM, Hou YL</i> 2571 Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats <i>Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ</i> 2578 Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1 <i>Peng F, Li X, Jiang JX, Wang M, Tian R, Xu M, Guo XJ, Qin RY</i> 2585 Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum <i>Ke MH, Ye L, Chen LW, Chen RQ, Zheng MX</i>
CLINICAL PRACTICE	2590 Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases <i>Feng Z, Minawaer•Abudu, Gulibahaer•Simayi</i> 2594 Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A meta-analysis <i>Ma SS, Wu JZ, Ning QY, Zhong DN, Wu JL</i> 2601 Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma <i>Zhu Z, Huang J, Li WL, Hong M, Yin L, Yang J, Chen MQ, Dong J</i> 2606 Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis <i>Lin Y, Lin LJ, Cui Y, Zheng CQ</i> 2611 Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation <i>Zhou SY, Liu T, Qin HZ, Li Y</i> 2617 Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases <i>Li J, Li ZR, Li YL, Liu ZR, Tu FM, Wu B</i> 2620 Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children <i>Liu ZG, Li HB, Wang SM, Xu FL</i>

CASE REPORT	2623 Hepatic glycogen storage disease: A case report <i>Zuo LL, Wu HM, Yang LH, Tang YM, Yang JH</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ.</i> Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(25): 2571-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/25/2571.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2571
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系

魏蕊, 杨进, 洪天配

魏蕊, 杨进, 洪天配, 北京大学第三医院内分泌科 北京市 100191

洪天配, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事糖尿病、干细胞分化的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070701, 81000315, 81270858

国家973计划基金资助项目, No. 2012CB517502

高等学校博士学科点新教师基金资助项目, No. 20120001120063, No. 20120001120076

作者贡献分布: 本文设计与指导由洪天配完成; 写作由魏蕊与杨进完成。

通讯作者: 洪天配, 教授, 主任医师, 100191, 北京市海淀区花园北路49号, 北京大学第三医院内分泌科。tpho66@bjmu.edu.cn

电话: 010-82265515 传真: 010-62017700

收稿日期: 2013-06-14 修回日期: 2013-07-12

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation

Rui Wei, Jin Yang, Tian-Pei Hong

Rui Wei, Jin Yang, Tian-Pei Hong, Department of Endocrinology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070701, 81000315, 81270858; the Major National Basic Research Program of China, No. 2012CB517502; and the Young Scientist Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20120001120063, No. 20120001120076

Correspondence to: Tian-Pei Hong, Professor, Chief Physician, Department of Endocrinology, Peking University Third Hospital, 49 Huayuan North Road, Haidian District, Beijing 100191, China. tpho66@bjmu.edu.cn

Received: 2013-06-14 Revised: 2013-07-12

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

As the main components of the pancreatic islet niche, endothelial cells participate in many processes of pancreatic development, including pancreatic cell fate decision, endocrine pancreatic cell differentiation and proliferation, and spatial distribution of the pancreas. On different occasions, endothelial cells play disparate roles by cross-talking with islet cells to influence endocrine pancreatic cell differentiation and islet morphology and function. Cytokines such as hepatocyte growth factor and sphingosine-1-phos-

phate as well as the extracellular matrixes such as laminin and collagen IV, which are produced and/or secreted by endothelial cells, play important roles in the regulation of islet development and function. Furthermore, endothelial cells are involved in the balance between self-renewal and differentiation of stem cells. Application of endothelial cells to induce the differentiation of stem cells into functional islet cells may be one of the most promising approaches to cell replacement therapy for diabetes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endothelial cells; Islet development; Stem cell differentiation

Wei R, Yang J, Hong TP. Relationship between vascular endothelial cells and pancreatic islet development and stem cell differentiation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2493-2499 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2493>

摘要

血管内皮细胞是构成胰岛微环境的重要组成部分。内皮细胞参与胰腺的发生、胰腺内分泌细胞的分化和增殖、胰腺的空间分布等各个方面,其作用贯穿于胰腺的整个发育过程。不同状态的内皮细胞在不同的作用时间窗所起的作用不同,可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交互,进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态及其功能。内皮细胞可分泌肝细胞生长因子、1-磷酸-鞘氨醇等细胞因子,并且可产生层粘连蛋白、IV型胶原等细胞外基质成分,这些分子在胰岛的发育和功能调控中发挥重要作用。此外,内皮细胞还可参与调控干细胞的自我更新和定向分化。内皮细胞在促进干细胞向胰岛细胞分化方面的作用是糖尿病再生医学领域备受关注的研究方向。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 血管内皮细胞; 胰岛发育; 干细胞分化

核心提示: 内皮细胞参与胰腺的发生、胰岛的分

■背景资料

胰岛的生长发育和功能调控离不开其赖以存在的土壤-微环境的稳定。微环境主要由微循环决定,是胰岛进行物质交换、能量代谢和信息传递的重要场所。组成微循环屏障的胰岛微血管内皮细胞在维持胰岛结构和功能中发挥重要作用。不同状态的内皮细胞在不同的作用时间所起的作用不同,可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交互,进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态及其功能。

■同行评议者

于璐, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

■ 研发前沿

本文就内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用及其可能的机制进行阐述。亟待研究的问题如下：在干细胞分化方面，不同类型、不同状态的内皮细胞的作用、与干细胞共培养的方式和时机等关键技术问题都有待于探讨。在作用机制方面，内皮细胞分泌的其他细胞因子和细胞外基质分子有待分析，他们在胰岛发育、增殖及功能调控中的作用尚需进一步探讨。

化和增殖、胰腺的空间分布等环节，其作用贯穿于胰腺的整个发育过程，还可参与调控干细胞的自我更新和定向分化。内皮细胞产生的细胞因子和细胞外基质成分在胰岛的发育和功能调控中发挥重要作用。

魏磊, 杨进, 洪天配. 血管内皮细胞与胰岛发育和干细胞分化的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2493-2499 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2493.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2493>

0 引言

胰岛的生长发育和功能调控离不开其赖以存在的土壤-微环境的稳定。微环境主要由微循环决定，是胰岛进行物质交换、能量代谢和信息传递的重要场所。组成微循环屏障的胰岛微血管内皮细胞在维持胰岛结构和功能中发挥重要作用。内皮细胞在发育生物学上与胰腺内分泌细胞存在密切的时间和空间联系，并且内皮细胞可影响干细胞向胰岛细胞分化。本文就内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用及其可能的机制进行阐述。

1 内皮细胞与胰岛的微循环

胰岛被密集的毛细血管网包绕，形成类似肾小球的高度血管化的微器官^[1,2]，其毛细血管网的密度大约是外分泌腺的5倍。虽然胰岛仅占整个胰腺体积的1%-2%，但其血流量却占胰腺全部血流量的10%-20%^[3]。丰富的血供一方面满足了胰岛自身对氧气和营养物质的需求，另一方面保证了胰岛能够迅速感知体内代谢环境的变化，以便快速分泌各种激素，并通过血液循环分布至相应的靶组织，调节机体的代谢平衡，这意味着胰岛微血管在胰岛生理功能的调节中发挥重要的作用。胰岛微血管内皮细胞是构成微血管组织屏障最主要的成分。胰岛微血管内皮细胞的窗孔样结构是外分泌腺的10倍，故胰岛毛细血管具有高通透性。此外，胰岛微血管内皮细胞与外分泌腺血管内皮细胞之间的表面标志物表达存在高达80%的差别，并且可分泌一些细胞因子^[4,5]。

2 内皮细胞对胰腺发育、胰岛细胞分化和增殖的影响

器官发育与血管发育是协调一致的过程。已有研究表明，源于内胚层的实质细胞与源于中胚层的血管内皮细胞之间相互诱导、相互作用。一方面，内皮细胞向组织细胞发出信号，确定器

官的定位、形态和分化状态^[3]；另一方面，受组织细胞的影响，内皮细胞获得器官特异性的特征，以适应器官的生长发育，并与全身血液循环相连通。胰岛的发育同样也遵循相似的模式：血管内皮细胞诱导与血管邻近的胰岛细胞发育；继而胰岛细胞向内皮细胞发出信号，促使其在胰岛内部创建毛细血管网，并且与循环系统相连通^[6]。胰腺胚胎发育的各个阶段和出生后的胰岛功能调控均需要来自内皮细胞的信号^[7]。

2.1 内皮细胞诱导胰腺的发生 胰腺的发育源于前肠内胚层，在小鼠胚胎E8.5-9.5 d，内胚层上皮在与大血管接触处启动了胰腺发育，其中在与胚胎背侧主动脉接触处长出背侧胰芽，而在与胚胎腹侧卵黄静脉接触处长出两个腹侧胰芽^[8,9]。该阶段的血管仅由内皮细胞组成，缺少平滑肌细胞和其他支持细胞，提示内皮细胞可能对胰腺发育具有重要的诱导作用。研究发现，背侧胰腺中胰腺特异性转录因子1a(pancreas specific transcription factor 1a, Ptf1a)和胰十二指肠同源盒因子1(pancreas duodenal homeobox 1, Pdx1)表达的调控均需要源自主动脉内皮细胞的信号^[9]。在非洲爪蟾的胚胎中，去除背侧主动脉后可阻碍内分泌胰腺的发育^[10]。个案病例报道显示，1例主动脉缩窄的患者伴有胰腺体尾部(背侧胰芽发育而来)特异性缺失，而胰腺头部(腹侧胰芽发育而来)则发育正常，提示背侧胰芽的发育需要来自主动脉内皮细胞的信号^[11]。

2.2 内皮细胞对胰腺空间分布的影响 在胰腺整个发育过程中，胰腺细胞与内皮细胞在空间位置上关系密切^[12]：小鼠胚胎E8.5-9.5 d，大血管的内皮细胞与内胚层上皮接触；E11.5 d，内皮细胞形成不规则的网络结构包绕胰芽周围；E13.5-15.5 d，内皮细胞形成血管结构以密集的蜂房样形式包绕原始上皮分支的底部。血管的分布可影响胰腺的空间分布。在小鼠胚胎发育早期，血管对称排列，背侧胰芽和腹侧胰芽的排列亦对称；E9.5-10.5 d，血管系统变得不对称时，胰芽的对称排列同时发生变化，腹外侧邻近右侧卵黄静脉(门静脉)内皮细胞的胰芽发育成为终末期的腹侧胰腺，而另一个腹侧胰芽随邻近的左侧卵黄静脉一同退化^[10]。随后，内皮细胞作为内脏中胚层的小血管或作为门静脉这样的大血管继续与发育中的胰腺内胚层接触，参与之后胰腺发育各个阶段的调控^[13]。

2.3 内皮细胞对胰岛细胞发育和分化的调控作用 在胰腺发育早期，来自中胚层的脊索可促进胰腺特化^[14,15]，但是脊索对已完成特化的胰腺向

内分泌细胞的分化并无作用. 在非洲爪蟾的胚胎中, 去除背侧主动脉后虽可检测到胰腺前体细胞标志物Pdx1的表达, 但却无内分泌细胞的产生^[10]. 因此, 内皮细胞对于胰腺前体细胞向内分泌细胞的分化可能是不可或缺的.

在Pdx1启动子引导下过表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可导致胰腺高度血管化和胰岛增生^[10,13], 而VEGF受体(VEGF receptor, VEGFR)的主要亚型VEGFR2在胰岛中并不表达, 提示胰岛增生是继发于血管新生之后而非VEGF的直接作用^[10,16,17]. 另有研究显示, 过表达VEGF可通过增加内皮细胞总量而抑制腺泡细胞发育; 相反, 在Pdx1启动子引导下敲除VEGF基因则可减少内皮细胞的数量, 进而促进腺泡细胞发育^[12]. 上述结果表明, 内皮细胞可参与调控已经特化的胰腺向胰腺内外分泌细胞谱系的分化. 此外, 在Pdx1启动子引导下过表达VEGF的小鼠中, 在胃和十二指肠与异位产生的内皮细胞直接作用的部位中, 可呈现胰芽状的结构, 表达胰岛素基因, 并且胰岛素表达量的高低与血管化程度密切相关^[10], 提示来自内皮细胞的信号也有助于非胰腺谱系的前体细胞分化为胰岛素分泌细胞.

在大鼠胰岛素启动子引导下过表达VEGF, 虽可显著增加内皮细胞总量, 但过多的内皮细胞排列紊乱, 抑制胰岛细胞增殖, 降低胰岛细胞总量, 导致胰岛素和胰高血糖素含量降低, 并且阻碍了内分泌胰腺的分化, 导致 α 和 β 细胞散在分布, 不能聚集形成胰岛团样结构. 上述结果提示, 不同水平的VEGF在不同的作用时间窗可导致内皮细胞的结构、密度、成熟和功能的不同, 可影响胰腺内分泌细胞与内皮细胞之间的信号交联, 进而影响胰岛细胞的分化和胰岛的形态^[18].

2.4 内皮细胞促进胰岛细胞的增殖 在胰腺内分泌前体细胞发育为成熟胰岛细胞的过程中, 伴随着胰岛的高度血管化^[10]. 研究显示, 在体外培养的小鼠胚胎E12.5 d的胰腺组织中, 添加VEGFR抑制剂可抑制内皮细胞的增殖, 从而显著降低胰腺内分泌前体细胞标志物Sox9、神经元素3和配对盒因子6的表达^[12]. 胰腺内分泌细胞与内皮细胞的密切关联持续到出生后, 以调控胰岛细胞的扩增. 大鼠生后1 wk, 胰岛细胞显著增多, 而胰岛内皮细胞增殖则更为显著, 从而导致胰岛内毛细血管的密度显著增加, 并且增殖的胰腺内分泌细胞位于内皮细胞周围^[19], 提示内皮细胞对胰岛细胞增殖可能具有促进作用. 此

外, 在成年期胰岛 β 细胞总量和功能的代偿性增高与内皮细胞的增殖亦密切相关, 例如妊娠大鼠胰岛微血管内皮细胞的增殖可促进胰岛增殖, 以代偿妊娠期对胰岛素需求的增加^[20]. 值得注意的是, 内皮细胞在胰腺早期发育和后期转化过程中的调控作用则有所不同^[21,22]. 因此, 要促进胰腺内分泌细胞的分化和增殖, 必须严格掌握内皮细胞增殖的时机, 合理控制血管的密度.

总之, 内皮细胞与胰腺发育之间在时间和空间上存在密切的联系, 内皮细胞参与调控胰腺的发生、胰腺的空间分布、胰腺前体细胞的维持和扩增、胰腺内分泌细胞的分化成熟和增殖等胰腺发育的各个环节. 内皮细胞在不同的作用时间窗所起的作用不同, 可影响内皮细胞与胰岛细胞之间的信号交联, 进而影响胰腺内分泌细胞的分化、胰岛的形态和功能.

3 内皮细胞对干细胞定向分化的影响

从干细胞获得目的组织细胞类型需将干细胞沿特定方向诱导分化, 各种体外分化方案都是基于对体内器官或组织发育规律的认识, 模拟其胚胎发育的过程, 从而在体外产生具有某种特性的组织细胞类型^[23-25]. 目前体外诱导干细胞定向分化方案均存在分化效率低、分化细胞的成熟度差等问题. 内皮细胞参与器官的发育、成熟和功能调控. 因此, 内皮细胞在改进体外诱导干细胞定向分化方案中可能具有重要的意义.

来自以色列的研究小组将人脐静脉内皮细胞或人胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)来源的内皮祖细胞和小鼠胚胎成纤维细胞与人ESC分化形成的心肌样细胞在体外三维支架上共培养, 可提高心脏组织的血管密度, 形成稳定的血管结构, 显著增加心肌样细胞的增殖能力, 上调心肌细胞分化和成熟相关标记物的表达. 将体外构建的心肌组织移植到大鼠心脏后, 移植植物可以存活, 并可与宿主的心肌整合, 移植植物内的心肌样细胞可进一步成熟, 移植物的血管化程度较高, 形成的血管结构可发挥功能, 并且可与宿主的循环系统整合^[26,27]. 上述结果提示, 内皮细胞在体外和体内均可促进干细胞的定向分化和功能成熟.

另一方面, 血管微环境可促进干细胞的自我更新, 例如, 神经干细胞、脂肪前体细胞、精原细胞等干细胞多潜能状态的维持, 都与局部的血管微环境密切相关^[28]. 内皮细胞的状态可影响干细胞自我更新和分化能力间的平衡, 例如,

■创新盘点

胰岛微循环在胰岛的生长发育和功能调控中发挥重要的调控作用, 目前有不少研究报道了在生理和病理状态下胰岛微循环与胰岛功能的关系, 然而, 关于其与胰岛发育和分化的关系则未见报道. 本文阐述了内皮细胞在胰岛发育的不同时期发挥的作用, 总结了内皮细胞在干细胞分化中的作用及可能的作用机制, 该报道有助于明确胰岛的发育过程, 为体外干细胞的定向分化提供理论依据.

■应用要点

理解内皮细胞在胰岛发育中的作用及机制有助于明确胰岛的发育过程,为体外干细胞的定向分化提供理论依据。应用内皮细胞共培养或共移植的策略,可能有助于大量产生成熟的功能性胰岛 β 细胞,有望为糖尿病的治疗奠定基础。

在造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)中, Akt-mTOR信号通路激活的内皮细胞可促进HSC长期自我更新,而p42/44 MAPK信号通路激活的内皮细胞则可促进HSC分化为成熟的血细胞^[29];在神经干细胞中, Notch和Pten信号通路激活的内皮细胞可促进神经干细胞的增殖和分化^[30]。此外,共培养的内皮细胞可促进神经上皮的相互接触,从而激活Notch和Hes 1信号通路,促进神经干细胞的自我更新^[31]。

有关内皮细胞在干细胞向胰岛细胞分化中的作用,迄今报道比较有限。已有研究显示,将小鼠ESC分化来的胰腺内分泌前体细胞与原代大鼠心脏微血管内皮细胞共培养,可上调胰岛素、胰岛淀粉样多肽、葡萄糖转运蛋白2等胰岛 β 细胞特异性基因的表达,促进胰岛素分泌^[32]。同样,将人ESC分化来的胰腺内分泌前体细胞与原代大鼠心脏微血管内皮细胞共培养,也可获得类似的结果^[33]。此外,将小鼠ESC分化形成的包含3个胚层的拟胚体与人皮肤微血管内皮细胞系共培养,内皮细胞可促进胰腺前体细胞和胰岛细胞标志物的表达,内皮细胞分泌的骨形态形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等可溶性因子可能在其中扮演重要的角色^[34]。然而,关于共培养的方式和时机、内皮细胞的类型等关键技术问题都有待于进一步探讨,可能的作用机制亦需深入研究。

4 可能的作用机制

内皮细胞可促进胰岛细胞发育和分化,刺激胰岛细胞增殖,其作用可能与下列机制有关。

4.1 促进血管形成和改善血供 在成年胰岛中,要满足胰岛自身对氧气和营养物质的需求、感知体内代谢环境的变化、调节机体代谢平衡等功能,必须要保证充足的血流。因此,内皮细胞改善胰岛功能在很大程度上依赖于其改善血供的作用^[35,36]。此外,在胰岛发育后期,尤其是出生后的胰岛发育,随着血管密度的增多,内分泌细胞的增殖迅速,且内分泌细胞主要位于内皮细胞周围,提示成血管作用在胰岛发育中的重要性。

然而,在胚胎发育早期,内皮细胞促进血管形成和改善血供的作用就显得并不重要。内皮细胞可表达一些重要信号分子,如成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)家族、Wnt家族、Notch配体、神经营养素以及各种基底膜成分^[13],这些信号分子也可能

参与胰岛细胞与内皮细胞之间的相互作用。

4.2 细胞因子的作用 内皮细胞可分泌生长因子,诱导实质细胞的增殖,例如在肝脏发育和肝损伤后的细胞再生中,内皮细胞均可通过促进血管形成以外的机制而发挥作用^[37,38]。因此,内皮细胞可能通过同样的方式参与出生后胰岛 β 细胞总量的动态调节。研究显示,纯化的大鼠胰岛微血管内皮细胞在大鼠胰岛细胞条件培养基中培养,可获得胰岛-内皮条件培养基,其中存在肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF),用后一种条件培养基处理原代大鼠胰岛 β 细胞,可刺激 β 细胞增殖。此外,妊娠大鼠胰岛微血管内皮细胞的增殖要早于胰岛细胞的增殖,内皮细胞HGF的高表达与 β 细胞增殖的高峰相一致,而此时胰岛血流量并无明显变化,提示内皮细胞与 β 细胞之间在体内的相互作用可能是通过HGF介导的^[20]。在非人灵长类动物的离体胰岛中过表达HGF后进行移植,可显著改善胰岛移植的疗效^[39]。上述结果提示, HGF可促进胰岛细胞增殖并且改善其功能。

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可由内皮细胞、胰腺导管细胞和发育中的 β 细胞所分泌,在胰腺内分泌前体细胞向成熟胰岛细胞分化中发挥作用。在CTGF基因敲除小鼠中, β 细胞增殖显著降低,胰腺内分泌细胞的比例失调,胰岛形态学异常^[40]。

内皮细胞特异性表达的1-磷酸-鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)对于前肠内胚层来源的器官(如胃、肝脏、胰腺等)的发育是必需的。内皮细胞通过S1P直接或间接发挥作用,诱导间质细胞增殖,促进背侧胰腺细胞的增殖^[41]。在S1P基因敲除小鼠中,Pdx1阳性的胰腺前体细胞数量降低,背侧胰腺和腹侧胰腺体积明显减小,提示S1P对胰腺内胚层的增殖具有非常重要的作用。然而S1P对胰腺内分泌细胞的分化则无影响^[22]。

4.3 细胞外基质的作用 特定组织的基底膜所分泌的信号分子是构成上皮细胞微环境的重要组成部分,决定上皮细胞的可塑性^[42]。在Pdx1启动子引导下敲除VEGF,引起胰岛的内皮细胞全部缺失,导致胰岛不能形成基底膜,提示胰岛 β 细胞基底膜的形成依赖于内皮细胞^[43]。内皮细胞是许多细胞外基质蛋白的主要来源。

内皮细胞的层黏连蛋白(laminin, Ln)表达水平比胰岛细胞更高。内皮细胞制备的条件培养基可促进离体大鼠胰岛的胰岛素分泌、提高细

胞内胰岛素含量, 添加Ln抗体后可逆转上述效应, 而添加外源性Ln后, 胰岛素分泌和胰岛素含量的增加则更加显著^[44]。特定的Ln亚型对胰岛 β 细胞的增殖和分化发挥重要作用。Ln-111表达在发育期的胎儿胰岛中较丰富, 而在成人胰岛中表达则非常有限^[45]。富含Ln-111的Matrigel对于人胰腺导管细胞向胰岛细胞的分化非常重要^[46,47], 对小鼠胚胎胰腺前体细胞分化也具有促进作用^[48], 并且可促进葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[49]。在成年小鼠血管内皮细胞所产生的基底膜成分中, Ln亚型主要是Ln-411和Ln-511, 其以整合素 $\beta 1$ 依赖性的方式促进小鼠 β 细胞的增殖和胰岛素基因的表达^[49]。

胰岛微血管内皮细胞分泌的IV型胶原可作用于 β 细胞的受体整合素 $\alpha 1\beta 1$, 调控胰岛素分泌^[50]。硫酸乙酰肝素是正常胰岛微血管基底膜组成成分, 对于维持正常胰岛素释放和葡萄糖耐量是必需的^[51]。此外, 胰岛微血管内皮细胞还可分泌多种其他的细胞外基质分子, 他们在胰岛发育、增殖及功能调控中的作用尚需进一步探讨。

5 结论

内皮细胞与胰腺内分泌细胞存在密切的时间和空间联系, 内皮细胞参与调控胚胎胰腺的发生、胰腺的空间分布、胰岛细胞分化、成熟和增殖等各个方面, 还参与出生后胰岛发育成熟和功能调控。内皮细胞可分泌HGF、SIP等细胞因子, 还可产生Ln、IV型胶原等细胞外基质成分, 这些分子对于胰岛的发育、分化和功能调控发挥重要作用。此外, 不同状态的内皮细胞调控干细胞的自我更新和分化潜能之间的平衡。应用内皮细胞共培养或共移植的策略, 可能有助于大量产生成熟的功能性胰岛 β 细胞, 有望为糖尿病的细胞替代治疗奠定基础。

6 参考文献

- Olsson R, Carlsson PO. The pancreatic islet endo-thelial cell: emerging roles in islet function and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 492-497 [PMID: 16162421 DOI: 10.1016/j.biocel.2005.06.021]
- Bonner-Weir S, Orci L. New perspectives on the microvasculature of the islets of Langerhans in the rat. *Diabetes* 1982; 31: 883-889 [PMID: 6759221 DOI: 10.2337/diabetes.31.10.883]
- Nikolova G, Lammert E. Interdependent development of blood vessels and organs. *Cell Tissue Res* 2003; 314: 33-42 [PMID: 12898210 DOI: 10.1007/s00441-003-0739-8]
- Zanone MM, Favaro E, Camussi G. From endothelial to beta cells: insights into pancreatic islet micro-endothelium. *Curr Diabetes Rev* 2008; 4: 1-9 [PMID: 18220689 DOI: 10.2174/157339908783502415]
- Lidington EA, Moyes DL, McCormack AM, Rose ML. A comparison of primary endothelial cells and endothelial cell lines for studies of immune interactions. *Transpl Immunol* 1999; 7: 239-246 [PMID: 10638837 DOI: 10.1016/S0966-3274(99)80008-2]
- Konstantinova I, Lammert E. Microvascular development: learning from pancreatic islets. *Bioessays* 2004; 26: 1069-1075 [PMID: 15382139 DOI: 10.1002/bies.20105]
- Villasenor A, Cleaver O. Crosstalk between the developing pancreas and its blood vessels: an evolving dialog. *Semin Cell Dev Biol* 2012; 23: 685-692 [PMID: 22728668 DOI: 10.1016/j.semcdb.2012.06.003]
- Jacquemin P, Yoshitomi H, Kashima Y, Rousseau GG, Lemaigre FP, Zaret KS. An endothelial-mesenchymal relay pathway regulates early phases of pancreas development. *Dev Biol* 2006; 290: 189-199 [PMID: 16386727 DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.11.023]
- Yoshitomi H, Zaret KS. Endothelial cell interactions initiate dorsal pancreas development by selectively inducing the transcription factor Ptf1a. *Development* 2004; 131: 807-817 [PMID: 14736742 DOI: 10.1242/dev.00960]
- Lammert E, Cleaver O, Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science* 2001; 294: 564-567 [PMID: 11577200 DOI: 10.1126/science.1064344]
- Kapa S, Gleeson FC, Vege SS. Dorsal pancreas agenesis and polysplenia/heterotaxy syndrome: a novel association with aortic coarctation and a review of the literature. *JOP* 2007; 8: 433-437 [PMID: 17625295]
- Pierreux CE, Cordi S, Hick AC, Achouri Y, Ruiz de Almodovar C, Prévot PP, Courtoy PJ, Carmeliet P, Lemaigre FP. Epithelial: Endothelial cross-talk regulates exocrine differentiation in developing pancreas. *Dev Biol* 2010; 347: 216-227 [PMID: 20807526 DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.08.024]
- Lammert E, Cleaver O, Melton D. Role of endothelial cells in early pancreas and liver development. *Mech Dev* 2003; 120: 59-64 [PMID: 12490296 DOI: 10.1016/S0925-4773(02)00332-5]
- Kim SK, Hebrok M, Melton DA. Notochord to endoderm signaling is required for pancreas development. *Development* 1997; 124: 4243-4252 [PMID: 9334273]
- Hebrok M, Kim SK, Melton DA. Notochord repression of endodermal Sonic hedgehog permits pancreas development. *Genes Dev* 1998; 12: 1705-1713 [PMID: 9620856 DOI: 10.1101/gad.12.11.1705]
- Brissova M, Shostak A, Shiota M, Wiebe PO, Poffenberger G, Kantz J, Chen Z, Carr C, Jerome WG, Chen J, Baldwin HS, Nicholson W, Bader DM, Jetton T, Gannon M, Powers AC. Pancreatic islet production of vascular endothelial growth factor--a is essential for islet vascularization, revascularization, and function. *Diabetes* 2006; 55: 2974-2985 [PMID: 17065333 DOI: 10.2337/db06-0690]
- Christofori G, Naik P, Hanahan D. Vascular endothelial growth factor and its receptors, flt-1 and flk-1, are expressed in normal pancreatic islets and throughout islet cell tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 1760-1770 [PMID: 8614412 DOI: 10.1210/me.9.12.1760]
- Cai Q, Brissova M, Reinert RB, Pan FC, Brahmachary P, Jeansson M, Shostak A, Radhika A, Poffen-

同行评价

本文就糖尿病研究前沿领域-内皮细胞在胰岛发育和干细胞分化的作用进行系统评述, 并阐述了可能的作用机制, 对临床和科研有较强的指导意义。

- berger G, Quaggin SE, Jerome WG, Dumont DJ, Powers AC. Enhanced expression of VEGF-A in β cells increases endothelial cell number but impairs islet morphogenesis and β cell proliferation. *Dev Biol* 2012; 367: 40-54 [PMID: 22546694 DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.04.022]
- 19 Johansson M, Andersson A, Carlsson PO, Jansson L. Perinatal development of the pancreatic islet microvasculature in rats. *J Anat* 2006; 208: 191-196 [PMID: 16441563 DOI: 10.1111/j.1469-7580.2006.00520.x]
 - 20 Johansson M, Mattsson G, Andersson A, Jansson L, Carlsson PO. Islet endothelial cells and pancreatic beta-cell proliferation: studies in vitro and during pregnancy in adult rats. *Endocrinology* 2006; 147: 2315-2324 [PMID: 16439446 DOI: 10.1210/en.2005-0997]
 - 21 Magenheimer J, Ilovich O, Lazarus A, Klochendler A, Ziv O, Werman R, Hija A, Cleaver O, Mishani E, Keshet E, Dor Y. Blood vessels restrain pancreas branching, differentiation and growth. *Development* 2011; 138: 4743-4752 [PMID: 21965615 DOI: 10.1242/dev.066548]
 - 22 Sand FW, Hörnblad A, Johansson JK, Lorén C, Eds-bagge J, Ståhlberg A, Magenheimer J, Ilovich O, Mishani E, Dor Y, Ahlgren U, Semb H. Growth-limiting role of endothelial cells in endoderm development. *Dev Biol* 2011; 352: 267-277 [PMID: 21281624 DOI: 10.1016/j.ydbio.2011.01.026]
 - 23 陆长富. 发育重演律与干细胞研究. 自然杂志 2009; 31: 285-289
 - 24 Zhang D, Jiang W, Liu M, Sui X, Yin X, Chen S, Shi Y, Deng H. Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells. *Cell Res* 2009; 19: 429-438 [PMID: 19255591 DOI: 10.1038/cr.2009.28]
 - 25 魏蕊, 洪天配. 干细胞技术治疗糖尿病的研究进展与应用前景. 世界华人消化杂志 2011; 19: 441-450
 - 26 Caspi O, Lesman A, Basevitch Y, Gepstein A, Arbel G, Habib IH, Gepstein L, Levenberg S. Tissue engineering of vascularized cardiac muscle from human embryonic stem cells. *Circ Res* 2007; 100: 263-272 [PMID: 17218605 DOI: 10.1161/01.RES.0000257776.05673.ff]
 - 27 Lesman A, Habib M, Caspi O, Gepstein A, Arbel G, Levenberg S, Gepstein L. Transplantation of a tissue-engineered human vascularized cardiac muscle. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 115-125 [PMID: 19642856 DOI: 10.1089/ten.TEA.2009.0130]
 - 28 Cleaver O, Dor Y. Vascular instruction of pancreas development. *Development* 2012; 139: 2833-2843 [PMID: 22833471 DOI: 10.1242/dev.065953]
 - 29 Kobayashi H, Butler JM, O'Donnell R, Kobayashi M, Ding BS, Bonner B, Chiu VK, Nolan DJ, Shido K, Benjamin L, Rafii S. Angiocrine factors from Akt-activated endothelial cells balance self-renewal and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 1046-1056 [PMID: 20972423 DOI: 10.1038/ncb2108]
 - 30 Sun J, Zhou W, Ma D, Yang Y. Endothelial cells promote neural stem cell proliferation and differentiation associated with VEGF activated Notch and Pten signaling. *Dev Dyn* 2010; 239: 2345-2353 [PMID: 20730910 DOI: 10.1002/dvdy.22377]
 - 31 Shen Q, Goderie SK, Jin L, Karanth N, Sun Y, Abramova N, Vincent P, Pumiglia K, Temple S. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science* 2004; 304: 1338-1340 [PMID: 15060285 DOI: 10.1126/science.1095505]
 - 32 Banerjee I, Sharma N, Yarmush M. Impact of co-culture on pancreatic differentiation of embryonic stem cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2011; 5: 313-323 [PMID: 20717889 DOI: 10.1002/term.317]
 - 33 Jaramillo M, Banerjee I. Endothelial cell co-culture mediates maturation of human embryonic stem cell to pancreatic insulin producing cells in a directed differentiation approach. *J Vis Exp* 2012; (61): 3759 [PMID: 22491132 DOI: 10.3791/3759]
 - 34 Talavera-Adame D, Wu G, He Y, Ng TT, Gupta A, Kurtovic S, Hwang JY, Farkas DL, Dafeo DC. Endothelial cells in co-culture enhance embryonic stem cell differentiation to pancreatic progenitors and insulin-producing cells through BMP signaling. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 532-543 [PMID: 21298405 DOI: 10.1007/s12015-011-9232-z]
 - 35 李新, 袁莉. 胰岛微循环与胰岛功能. 国际内科学杂志 2008; 35: 709-712
 - 36 Eberhard D, Kragl M, Lammert E. 'Giving and taking': endothelial and beta-cells in the islets of Langerhans. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21: 457-463 [PMID: 20359908 DOI: 10.1016/j.tem.2010.03.003]
 - 37 Matsumoto K, Yoshitomi H, Rossant J, Zaret KS. Liver organogenesis promoted by endothelial cells prior to vascular function. *Science* 2001; 294: 559-563 [PMID: 11577199 DOI: 10.1126/science.1063889]
 - 38 LeCouter J, Moritz DR, Li B, Phillips GL, Liang XH, Gerber HP, Hillan KJ, Ferrara N. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGFR-1. *Science* 2003; 299: 890-893 [PMID: 12574630 DOI: 10.1126/science.1079562]
 - 39 Fiaschi-Taesch NM, Berman DM, Sicari BM, Takane KK, Garcia-Ocaña A, Ricordi C, Kenyon NS, Stewart AF. Hepatocyte growth factor enhances engraftment and function of nonhuman primate islets. *Diabetes* 2008; 57: 2745-2754 [PMID: 18820214 DOI: 10.2337/db08-1085]
 - 40 Crawford LA, Guney MA, Oh YA, Deyoung RA, Valenzuela DM, Murphy AJ, Yancopoulos GD, Lyons KM, Brigstock DR, Economides A, Gannon M. Connective tissue growth factor (CTGF) inactivation leads to defects in islet cell lineage allocation and beta-cell proliferation during embryogenesis. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 324-336 [PMID: 19131512 DOI: 10.1210/me.2008-0045]
 - 41 Eds-bagge J, Johansson JK, Esni F, Luo Y, Radice GL, Semb H. Vascular function and sphingosine-1-phosphate regulate development of the dorsal pancreatic mesenchyme. *Development* 2005; 132: 1085-1092 [PMID: 15689381 DOI: 10.1242/dev.01643]
 - 42 Otonkoski T, Banerjee M, Korsgren O, Thornell LE, Virtanen I. Unique basement membrane structure of human pancreatic islets: implications for beta-cell growth and differentiation. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10 Suppl 4: 119-127 [PMID: 18834439 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2008.00955.x]
 - 43 Nikolova G, Jabs N, Konstantinova I, Domogatskaya A, Tryggvason K, Sorokin L, Fässler R, Gu G, Gerber HP, Ferrara N, Melton DA, Lammert E. The vascular basement membrane: a niche for insulin gene expression and Beta cell proliferation. *Dev Cell* 2006; 10: 397-405 [PMID: 16516842 DOI: 10.1016/j.devcel.2006.01.015]
 - 44 Johansson A, Lau J, Sandberg M, Borg LA, Magnus-

- son PU, Carlsson PO. Endothelial cell signalling supports pancreatic beta cell function in the rat. *Diabetologia* 2009; 52: 2385-2394 [PMID: 19669728 DOI: 10.1007/s00125-009-1485-6]
- 45 Virtanen I, Gullberg D, Rissanen J, Kivilaakso E, Kiviluoto T, Laitinen LA, Lehto VP, Ekblom P. Laminin alpha1-chain shows a restricted distribution in epithelial basement membranes of fetal and adult human tissues. *Exp Cell Res* 2000; 257: 298-309 [PMID: 10837144 DOI: 10.1006/excr.2000.4883]
- 46 Gao R, Ustinov J, Pulkkinen MA, Lundin K, Korsgren O, Otonkoski T. Characterization of endocrine progenitor cells and critical factors for their differentiation in human adult pancreatic cell culture. *Diabetes* 2003; 52: 2007-2015 [PMID: 12882917 DOI: 10.2337/diabetes.52.8.2007]
- 47 Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, O'Neil JJ. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 7999-8004 [PMID: 10884429 DOI: 10.1073/pnas.97.14.7999]
- 48 Jiang FX, Cram DS, DeAizpurua HJ, Harrison LC. Laminin-1 promotes differentiation of fetal mouse pancreatic beta-cells. *Diabetes* 1999; 48: 722-730 [PMID: 10102687 DOI: 10.2337/diabetes.48.4.722]
- 49 Labriola L, Montor WR, Krogh K, Lojudice FH, Genzini T, Goldberg AC, Eliaschewitz FG, Sogayar MC. Beneficial effects of prolactin and laminin on human pancreatic islet-cell cultures. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 263: 120-133 [PMID: 17081683 DOI: 10.1016/j.mce.2006.09.011]
- 50 Kaido T, Yebra M, Cirulli V, Montgomery AM. Regulation of human beta-cell adhesion, motility, and insulin secretion by collagen IV and its receptor alpha1beta1. *J Biol Chem* 2004; 279: 53762-53769 [PMID: 15485856 DOI: 10.1074/jbc.M411202200]
- 51 Takahashi I, Noguchi N, Nata K, Yamada S, Kaneiwa T, Mizumoto S, Ikeda T, Sugihara K, Asano M, Yoshikawa T, Yamauchi A, Shervani NJ, Uruno A, Kato I, Unno M, Sugahara K, Takasawa S, Okamoto H, Sugawara A. Important role of heparan sulfate in postnatal islet growth and insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 383: 113-118 [PMID: 19336225 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.140]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义

彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义

■背景资料

miR-141属于miR-200家族,被证实多种肿瘤细胞及正常细胞的生长、分化和转移方面发挥重要的调控作用,已成为最受关注mi-croRNA家族之一。

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

江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

彭丰, 主要从事胆道胰腺肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, Nos. 81071775, 81172064, 81160311, 81001068, 81101621

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDA030

中国博士后科学基金面上资助项目, No. 2013M531983

作者贡献分布: 实验设计由彭丰与秦仁义完成; 数据获取由王敏、江建新、田锐及郭兴军完成; 数据统计由李旭与徐盟完成; 论文撰写由彭丰与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成。

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

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells

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

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

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

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775, 81101621, 81160311, 81172064, and 81001068; the Key Projects of Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDA030; the China Postdoctoral Science Foundation, No. 2013M531983

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

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To screen differentially expressed microRNAs in serum and tissues of patients with gallbladder cancer and explore their effect on the migration and invasion ability of gallbladder cancer cells.

METHODS: The expression of 11 microRNAs was detected in serum of 12 patients with gallbladder cancer and 14 normal controls to screen differentially expressed microRNAs. Differential expression of screened microRNAs in human gallbladder cancer tissues was verified by real-time PCR. The effect of miR-141 mimic transfection on the invasion and migration ability of human gallbladder cancer GBC-SD cells was detected by Transwell assay and wound-healing assay.

RESULTS: Compared to the control group, two microRNAs (miR-141 and miR-200a) were significantly down-regulated, and one up-regulated in serum of patients with gallbladder cancer. The expression of miR-141 in human gallbladder cancer tissues was also significantly lower than that in normal gallbladder tissues ($P < 0.05$). Expression of miR-141 in human gallbladder cancer tissues was related with distant metastasis. The invasion and migration abilities of GBC-SD cells were declined after lentivirus-mediated miR-141 up-regulation.

CONCLUSION: Some microRNAs are differentially expressed in serum and tissues between patients with gallbladder cancer and healthy people. MiR-141 is probably involved in invasion and migration of gallbladder cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gallbladder cancer; MicroRNA; Invasion and metastasis

Peng F, Wang M, Jiang JX, Tian R, Li X, Xu M, Guo XJ, Qin RY. Effect of circulating miR-141 on invasion and migration of gallbladder cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2500-2507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2500.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2500>

摘要

目的: 检测胆囊癌患者血清及肿瘤组织中microRNA的差异表达, 筛选关键microRNA并阐明其与患者临床特征的相关性及其对胆囊

■同行评议者

江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科

癌细胞侵袭迁移能力的影响。

方法: 收集2010-09/2012-04于武汉同济医院胆胰外科进行根治性手术的胆囊癌病例12例; 每例患者均采集术前外周血, 术中收集手术切除肿瘤标本。同时收集同期入院的胆囊结石/健康志愿者血清14例。利用Real-time PCR对12例胆囊癌患者及14例对照血清标本中的10条microRNA表达水平进行检测; 在12对胆囊癌和癌旁组织中对筛选出的差异microRNA进行验证; 结合患者临床病例资料进行相关性分析。利用慢病毒载体转染, 验证miR-141上调后在体外对胆囊癌GBC-SD细胞侵袭、迁移能力的影响。

结果: Real-time PCR结果提示, 相对于正常对照组, 胆囊癌患者血清中筛选出3条差异表达循环microRNA, 其中miR-141呈显著低表达, 差异具有统计学意义($P<0.05$); miR-141在胆囊癌组织中表达显著低于正常胆囊及癌旁组织, 胆囊癌中miR-141水平较癌旁组织中低16.68倍 \pm 0.64倍, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 再发或转移胆囊癌患者循环miR-141表达水平较术前明显降低, 差异具有统计学意义($P<0.05$); miR-141上调组GBC-SD细胞侵袭细胞较阴性对照组细胞数下降10.83倍 \pm 0.37倍, 迁移率下降3.48倍 \pm 0.62倍, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。

结论: 胆囊癌患者血清中miR-141表达具有差异性, miR-141在胆管癌组织中呈显著低表达, 且其可在体外显著抑制胆管癌细胞侵袭迁移能力, 可作为胆囊癌早期诊断及预后判断的潜在血清标志物。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胆囊癌; MicroRNA; 侵袭转移

核心提示: 胆囊癌患者循环型miR-141表达具有差异性, 且与患者远处转移及复发相关, 其可在体外显著抑制胆管癌细胞侵袭迁移能力, 可作为胆囊癌早期诊断及预后判断的潜在血清标志物。

彭丰, 王敏, 江建新, 田锐, 李旭, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义. 循环型miR-141在胆囊癌侵袭转移和复发中的影响及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2500-2507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2500.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2500>

0 引言

胆囊癌是胆道系统常见的恶性疾病之一, 由于

其早期易发生肝脏及周围脏器的浸润和远处转移, 导致其确诊后失去根治性手术的机会, 术后5年生存率较低^[1,2]。因此, 探寻胆囊癌早期诊断的方法及标准、提高患者的诊断率对突破现阶段胆囊癌的综合诊疗瓶颈具有非常重要的意义。目前, 国内外学者对胆囊癌发生发展的分子生物学机制进行了深入的探讨, 并探寻可能存在的特异性分子标志或潜在的治疗靶点^[3,4], 但大多数研究仍处于基础阶段, 无法将所得成果向临床应用转化。因此, 寻找将现有基础分子生物学研究与临床应用的联系, 是目前的研究重点之一。

MicroRNA是一类广泛的存在于真核生物中的小分子, 长度约为22个核苷酸。其不直接编码蛋白而通过与目的基因结合, 形成RNA诱导沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC), 降解mRNA和/或抑制其翻译^[5,6]。研究发现miRNA不仅对细胞的增殖、分化、凋亡和周期等生物学行为起到极为重要的调控作用^[7], 而且和肿瘤的多项恶性生物学效应密切相关^[8]。尤其是近来关于分泌型microRNA和循环性microRNA的研究, 更是将microRNA与肿瘤的相关性以及其在肿瘤临床综合诊治中的角色明朗化^[9,10]。但目前胆囊癌相关的microRNA研究仍为数不多^[11], 其研究成果也未能达成共识。我们通过长期在胆道恶性肿瘤中进行microRNA研究后发现, 特定的microRNA在胆囊癌中具有关键的生物学行为调节功能, 因此开展本次研究, 拟筛选出胆囊癌中差异性的循环microRNA并初步阐明其临床相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-09/2012-04于武汉同济医院胆胰外科中心进行根治性切除手术的胆囊癌病例12例设置为实验组, 收集同期入院胆囊结石/健康志愿者14例设置为对照组。12例患者均由术后病理证实为胆囊癌。人胆囊癌细胞系GBC-SD购自中国科学院上海生物化学与生物研究所; 1640培养液、特级胎牛血清、双抗溶液、OPTI-MEM均购自Gibco公司; 逆转录及Real-time PCR试剂均购自TAKARA公司; miR-141逆转录及Real-time PCR引物均由广州锐博生物公司设计并合成; miR-141过表达慢病毒载体由上海吉凯公司设计并合成; Lipo2000试剂购自Invitrogen公司; 基质胶(Matrigel)购自BD公司;

■研究前沿

miR-141已被证实实在肿瘤细胞的上皮间质转化过程中起负向调控作用, 但其对肿瘤远处转移的调控作用尚存在一定争议, 循环型miR-141由于其所处环境的特殊性, 其临床相关性及生物学效应尚需进一步研究证明。

■相关报道

有研究证实循环型miR-141可以作为一种新型标志物,与癌胚抗原互补预测结肠癌患者的远处转移及预后。

表 1 胆囊癌组织/癌旁标本中miR-141表达水平的临床相关性分析

临床特征	miR-141		
	<i>n</i>	T	N
性别			
男	5	$P = 0.872$	$P = 0.302$
女	7		
年龄(岁)			
<55	5	$P = 0.742$	$P = 0.531$
≥55	7		
病理分化程度			
低分化	5	$P = 0.0587$	$P = 0.662$
中、高分化	3		
远处转移			
有	5	$P = 0.045$	$P = 0.267$
无	7		

^a $P < 0.05$ vs 无远处转移组. T: 胆囊癌组; N: 对照组.

Transwell小室购自Costar公司.

1.2 方法

1.2.1 患者血清及手术标本收集: 每例患者/对照组成员术前均采集外周血2 mL, 迅速转入EDTA抗凝管中, 涡旋混匀, 在1 h内4 °C, 820 *g*离心10 min. 取约1 mL上清转至洁净的1.5 mL离心管中, 16000 *g*, 4 °C, 离心10 min, 小心吸取上清到新的离心管中, 并置于-80 °C中储存. 收集手术切除胆囊癌标本12例, 同时收集配对正常胆囊/癌旁组织. 所有标本离体30 min内迅速切至0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm大小, 并置于液氮中快速冷却, 后置于-80 °C中储存. 12例手术患者中有4例患者在术后3 mo出现肝脏及远处转移再次入院, 按上述方法再次收集血清标本.

1.2.2 RNA提取及Real-time PCR检测: 采用采用mirVana PARIS试剂盒(Ambion)提取血清总RNA. 采用TRIzol法提取12例胆囊癌患者手术切除标本+对应癌旁组织总RNA, 所用microRNA逆转录及Real-time PCR引物均由广州锐博生物设计并合成. 逆转录方法根据引物说明采用两步法完成, 反应条件为: 70 °C 10 min, 冰浴2 min, 42 °C 60 min, 70 °C 10 min. 逆转录所得cDNA暂置于-80 °C冰箱保存. Real-time PCR采用Sybr Green染料法, 以RNU6B为内参. 反应条件为: 95 °C 20 s, 95 °C 10 s, 60 °C 20 s, 70 °C 10 s, 共进行40个循环. 每个实验均重复试验3次.

1.2.3 细胞侵袭及划痕实验: GBC-SD细胞转染miR-141过表达慢病毒载体, 转染前1 d接种适当

细胞于六孔板中, 次日按产品说明进行慢病毒载体转染, 取MOI值为25. 转染完成后3 d于荧光显微镜下观察转染情况并进行定量PCR检测, 转染后稳定细胞株按常规方法进行Transwell及划痕实验, 设置miR-141上调组、阴性对照及空白对照3个组. 所有实验均重复3次.

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件包进行数据分析, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

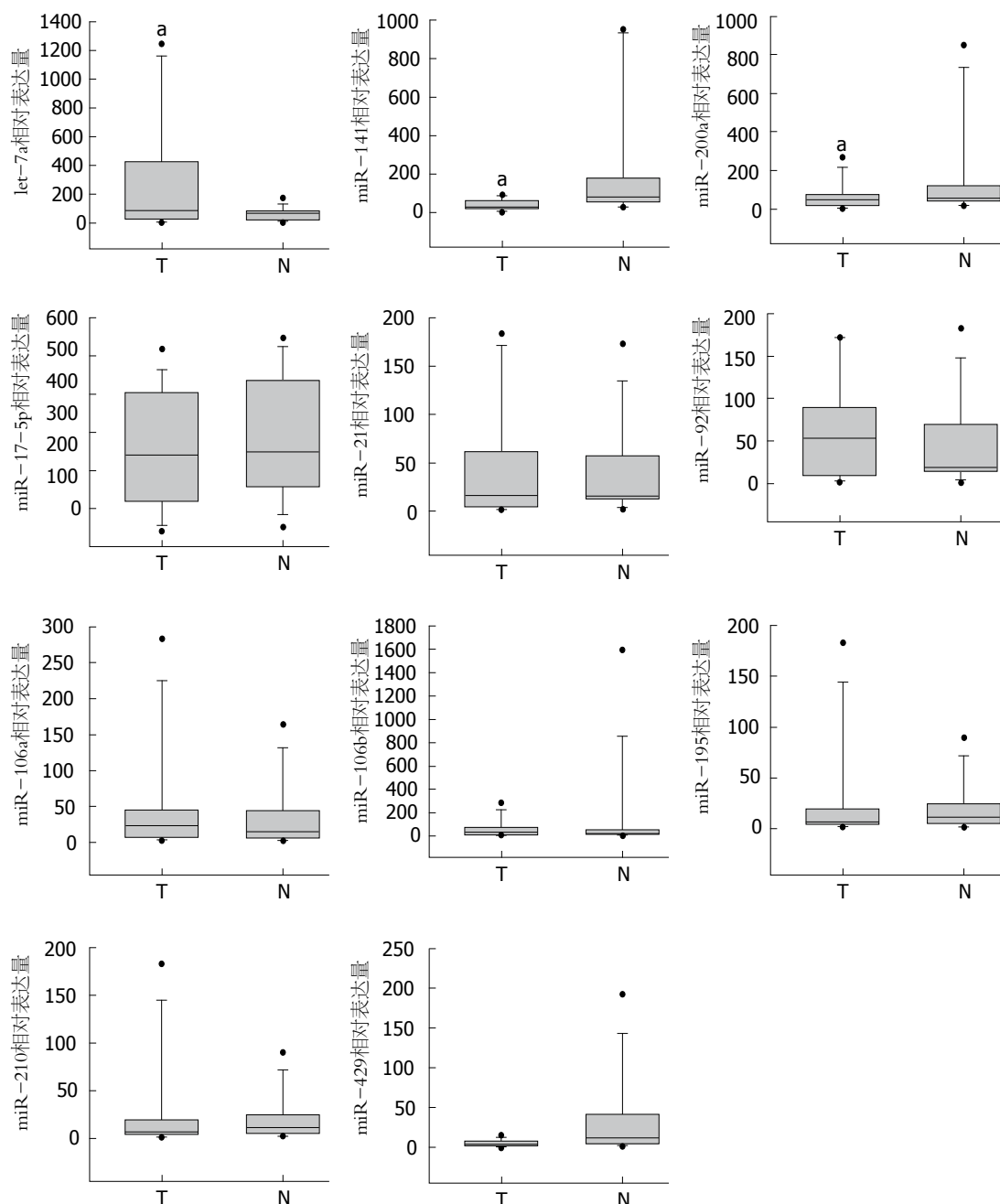
2.1 胆囊癌患者循环型microRNA差异表达水平的检测 对全部12例胆囊癌患者及14例对照组成员血清中循环microRNA进行检测, 检测指标如下: miR-210、miR-21、miR-200a、miR-141、miR-429、let-7a、miR-92、miR-195、miR-17-5p、miR-106a和miR-106b. RT-PCR结果显示, 相对于正常对照组, 胆囊癌组患者血清中let-7a呈显著高表达, miR-200a、miR-141呈显著低表达, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 余microRNA表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$, 图1).

2.2 再发及远处转移胆囊癌患者血清差异性循环microRNA表达水平的检测 根据初步筛查结果, 对4例因再发远处转移而再次入院的胆囊癌患者的血清标本进行miR-200a/miR-141/let-7a水平检测, 并与手术前血清标本结果比较, 结果发现再发远处转移胆囊癌患者血清中miR-141水平均较术前有明显降低. 综合4例患者再发远处转移前后血清miR-141水平表达, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), miR-200a、let-7a表达水平较术前差异无统计学意义($P > 0.05$, 图2).

2.3 胆囊癌组织标本及对应癌旁中miR-141表达水平的检测 结合前期研究结果, 对全部12对胆囊癌及对应癌旁标本中miR-141表达水平进行检测, 结果提示miR-141在胆囊癌组织中表达水平显著低于癌旁组织, 其表达较癌旁组织低16.68倍 \pm 0.64倍. 综合全部12对胆囊癌标本及对应癌旁表达情况, miR-141差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图3).

2.4 胆囊癌患者临床特征与循环miR-141的相关性分析 根据胆囊癌患者术前循环miR-141表达水平, 进行临床特征的相关性分析, 结果发现, 胆囊癌患者循环型miR-141的表达水平与患者的年龄、性别、病理分化程度无明显相关($P > 0.05$), 而与患者的远处转移相关($P < 0.05$, 表1).

2.5 miR-141对胆囊癌GBC-SD细胞侵袭迁移能



■创新盘点

本文首次证实循环型miR-141是在胆囊癌患者差异表达microRNA, 并初步证实了其临床相关性生物学效应调节功能。

图1 胆囊癌患者术前血清及对照组血清中11条miR表达水平检测结果. T: 胆囊癌组; N: 对照组, ^a $P < 0.05$ vs N.

力的影响检测 转染miR-141过表达慢病毒载体后RT-PCR结果显示, GBC-SD细胞内miR-141水平上调 986.20 ± 2.365 倍. 侵袭实验结果表明miR-141过表达干预后, 下室面迁移GBC-SD细胞数明显减少, 对比阴性对照组细胞数差异为 10.83 ± 0.37 倍, 具有统计学意义($P < 0.05$, 图4). 划痕实验结果表明miR-141过表达干预后, GBC-SD细胞迁移速率明显降低, 对比阴性对照组迁移率差异为 3.48 ± 0.62 倍, 具有统计学意义($P < 0.05$, 图4).

3 讨论

胆囊癌是常见的胆道系统恶性肿瘤之一, 具有较高的死亡率. 由于胆囊癌具有较强的侵袭性, 往往随着病情的发展产生局部的浸润、淋巴结转移、血管侵犯甚至远处转移等^[12]. 目前手术切除是唯一可治愈胆囊癌的治疗方法. 但胆囊癌患者早期症状不明显, 导致确诊后失去根治性手术的机会^[13]. 因此虽然近年来在外科手术以及辅助放化疗等方面均取得了长足的进步^[14], 但胆囊癌的综合诊治仍处于一个明显的瓶颈阶段.

■应用要点

本文为在胆囊癌中进一步探讨循环型miR-141的作用靶点及功能提供了理论基础, 并为其作为胆囊癌患者血清标志物的应用提供了初步的理论依据。

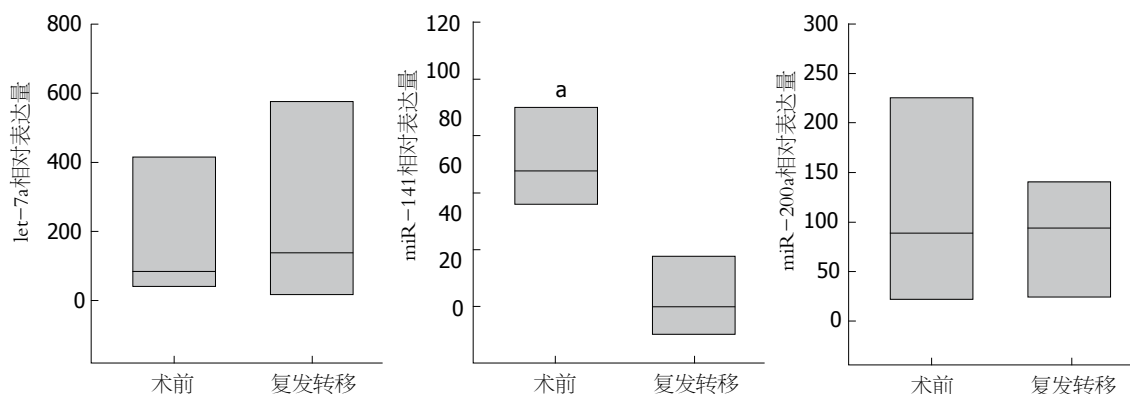


图2 4例复发/远处转移胆囊癌患者血清中miR-141、miR-200a及let-7a与术前血清表达水平对比结果。^a $P < 0.05$ vs 复发转移组。

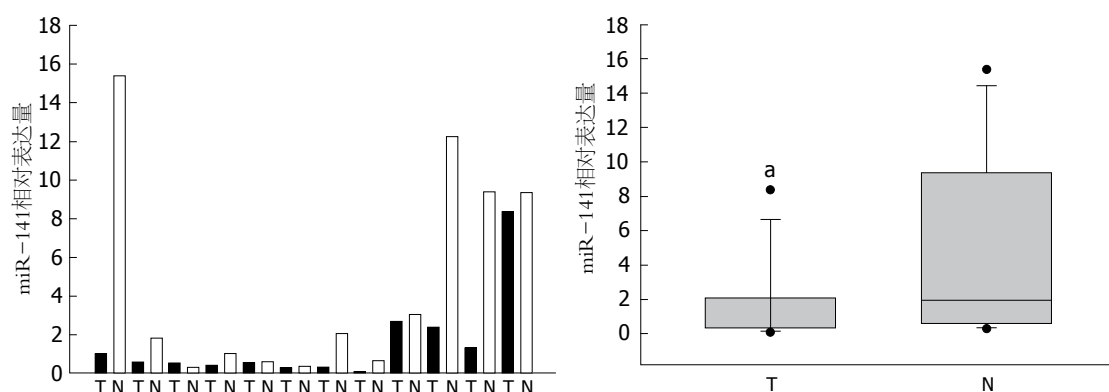


图3 12例胆囊癌患者手术标本及对应癌旁组织中miR-141表达水平检测结果。T: 胆囊癌组织; N: 对应癌旁组织, ^a $P < 0.05$ vs N。

因此, 探讨胆囊癌发生发展的分子机制, 寻找可能的关键位点和作用靶点, 是突破现有瓶颈的重要途径之一。

近期血浆、血清等体液样本中循环miRNAs(circulating miRNAs, cir-miRNAs)的发现及其作为疾病标志物的潜质引起了广泛的研究兴趣。Ratajczak等^[15]首先证实了miRNA的水平传播。该作者发现来自胚胎干细胞的微泡可通过传递mRNA诱导造血祖细胞的改变。Mitchell等^[16]通过传统的小RNA分子cDNA文库构建及克隆策略, 发现血浆或血清中绝大部分小RNA分子为miRNAs。Chen等^[17]对血清小分子RNA进行了提纯、扩增并检测, 发现血清中大部分分子RNA的长度均为22 nt左右, 恰好与miRNAs的平均长度相符。上述研究证实循环miRNAs是一大类稳定存在于血浆/血清中的新型分子。进一步的研究表明miR-92^[18]、miR-195^[19]、let-7a^[20]、miR-17-5p^[21]、miR-21^[22,23]、miR-106a^[24]、miR-144^[25]和miR-106b^[26]等循环miRNAs的表达水平在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)、乳腺

癌(breast cancer)、胃癌(gastric cancer, GC)等患者的血浆、血清中显著升高。因此, 循环miRNAs的发掘有望为肿瘤的诊断提供新的切入点^[27,28]。针对这一研究现状, 我们拟通过检测胆囊癌患者血清中循环microRNA的表达情况, 结合患者手术切除标本及临床资料, 筛选出胆囊癌特异性循环microRNA。我们首先通过在12例胆囊癌患者的血清中进行相关的microRNA表达水平的筛查, 通过和同期入院胆囊结石患者/健康志愿者对照, 确定了在胆囊癌患者中差异表达的3条microRNA-miR-200a、miR-141及let-7a。我们进而在胆囊癌患者手术组织标本中对筛选出的差异microRNA进行了表达水平的验证, 发现miR-141在胆囊癌患者血清及肿瘤组织中均呈明显的低表达。我们将4例术后复发或发生远处转移的患者血清中miR-141表达水平进行检测, 发现其相对术前表达水平也呈显著降低趋势。综合12例胆囊癌患者临床病例资料分析后发现, 胆囊癌患者循环型miR-141的表达水平与患者的年龄、性别、病理分化程度无明显相关, 而与患者

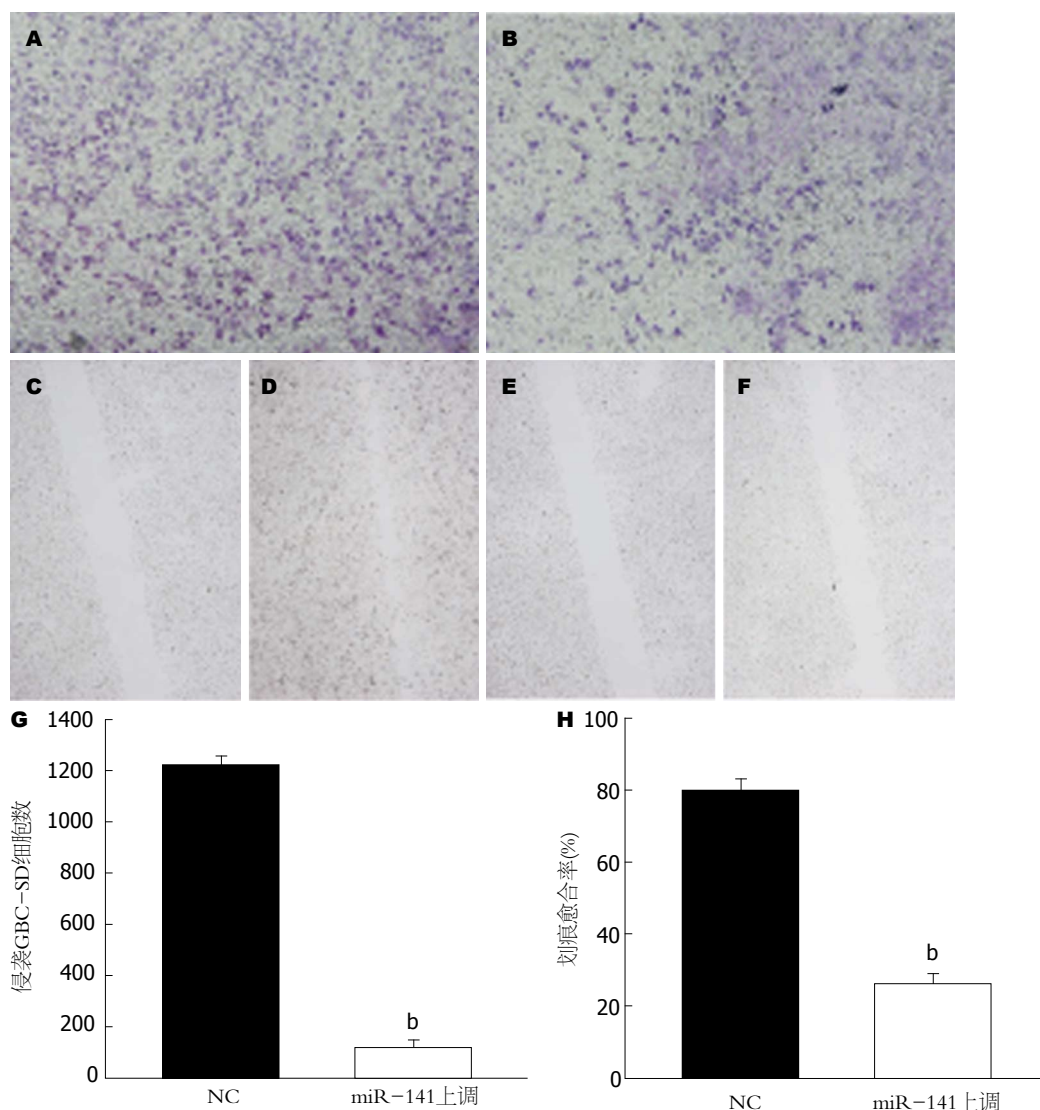


图4 转染miR-141后可显著抑制胆囊癌细胞GBC-SD体外的侵袭及迁移能力. A-B: miR-141上调后GBC-SD细胞侵袭能力明显降低; A: 阴性对照组; B: miR-141上调组; C-F: miR-141上调后GBC-SD细胞迁移能力明显降低; C, E: 0 h; D, F: 24 h; C, D: 阴性对照组; E, F: miR-141上调组; G: miR-141上调后GBC-SD细胞侵袭数较阴性对照组显著减少, ^b $P < 0.01$ vs NC. NC: 阴性对照组; H: miR-141上调后GBC-SD细胞划痕愈合率较阴性对照组显著减少, ^b $P < 0.01$ vs NC. NC: 阴性对照组.

的转移/再发相关. 我们继而在体外实验中利用慢病毒载体验证, 发现上调细胞内源性miR-141表达水平后, 对胆囊癌GBC-SD细胞的侵袭及迁移能力有明显的抑制作用, 初步证实了我们前期的筛选及验证结果.

总之, 循环型miR-141是胆囊癌患者血清中特异性microRNA之一. miR-141是miR-200家族的成员之一, 其与TGF- β 介导的上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)密切相关^[29,30]. 虽然miR-200家族在大多数肿瘤中的表达及其与肿瘤侵袭转移的关系均已被研究证实^[29,31], 但miR-200尤其是循环性miR-200家族和胆囊癌相关的研究目前仍为数不多. 我们通过本次研究证实了miR-141在胆囊癌患者血清中

的差异性表达, 且其表达水平随着患者复发/转移明显降低. 说明循环型miR-141可作为潜在的胆囊癌血清标志物之一, 并可作为判断患者预后及远处转移发生率的标准进行推广; 同时我们的体外实验初步证实了miR-141在胆囊癌中具有抑制侵袭转移的生物学功能, 也为后续的胆囊癌分子生物学研究打下了基础.

4 参考文献

- 1 Jones RS. Carcinoma of the gallbladder. *Surg Clin North Am* 1990; 70: 1419-1428 [PMID: 2247823]
- 2 Yee K, Sheppard BC, Domreis J, Blanke CD. Cancers of the gallbladder and biliary ducts. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16: 939-946, 949; discussion 949-950, 952-953, 956-957 [PMID: 12164560]
- 3 Zhai G, Yan K, Ji X, Xu W, Yang J, Xiong F, Su J, McNutt MA, Yang H. LAPTM4B allele *2 is a marker

- of poor prognosis for gallbladder carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e45290 [PMID: 22984631 DOI: 10.1371/journal.pone.0045290]
- 4 Liu C, Sun B, An N, Tan W, Cao L, Luo X, Yu Y, Feng F, Li B, Wu M, Su C, Jiang X. Inhibitory effect of Survivin promoter-regulated oncolytic adenovirus carrying P53 gene against gallbladder cancer. *Mol Oncol* 2011; 5: 545-554 [PMID: 22032823 DOI: 10.1016/j.molonc.2011.10.001]
 - 5 Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 473-477 [PMID: 23316035 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731]
 - 6 DeSano JT, Xu L. MicroRNA regulation of cancer stem cells and therapeutic implications. *AAPS J* 2009; 11: 682-692 [PMID: 19842044 DOI: 10.1208/s12248-009-9147-7]
 - 7 He J, Zhang W, Zhou Q, Zhao T, Song Y, Chai L, Li Y. Low-expression of microRNA-107 inhibits cell apoptosis in glioma by upregulation of SALL4. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45: 1962-1973 [PMID: 23811124 DOI: 10.1016/j.biocel.2013.06.008]
 - 8 Olivieri F, Rippo MR, Monsurro V, Salvioli S, Capri M, Procopio AD, Franceschi C. MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence and cancer. *Ageing Res Rev* 2013 May 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23688930 DOI: 10.1016/j.arr.2013.05.001]
 - 9 Eichelser C, Flesch-Janys D, Chang-Claude J, Pantel K, Schwarzenbach H. Deregulated Serum Concentrations of Circulating Cell-Free MicroRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in Human Breast Cancer Development and Progression. *Clin Chem* 2013 Jun 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23748853 DOI: 10.1373/clinchem.2013.205161]
 - 10 Li A, Yu J, Kim H, Wolfgang CL, Canto MI, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA Array Analysis Finds Elevated Serum miR-1290 Accurately Distinguishes Patients with Low-Stage Pancreatic Cancer from Healthy and Disease Controls. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3600-3610 [PMID: 23697990 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3092]
 - 11 Kono H, Nakamura M, Ohtsuka T, Nagayoshi Y, Mori Y, Takahata S, Aishima S, Tanaka M. High expression of microRNA-155 is associated with the aggressive malignant behavior of gallbladder carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 30: 17-24 [PMID: 23660842 DOI: 10.3892/or.2013.2443]
 - 12 Reid KM, Ramos-De la Medina A, Donohue JH. Diagnosis and surgical management of gallbladder cancer: a review. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 671-681 [PMID: 17468929 DOI: 10.1007/s11605-006-0075-x]
 - 13 Dutta U. Gallbladder cancer: can newer insights improve the outcome? *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 642-653 [PMID: 22168580 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07048.x]
 - 14 Abahssain H, Afchain P, Melas N, Ismaili N, Rahali R, Rabti HM, Errihani H. [Chemotherapy in gallbladder carcinoma]. *Presse Med* 2010; 39: 1238-1245 [PMID: 21074352 DOI: 10.1016/j.jlpm.2010.09.002]
 - 15 Ratajczak J, Miekus K, Kucia M, Zhang J, Reca R, Dvorak P, Ratajczak MZ. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia* 2006; 20: 847-856 [PMID: 16453000 DOI: 10.1038/sj.leu.2404132]
 - 16 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogossova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
 - 17 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
 - 18 Gandhi R, Healy B, Gholipour T, Egorova S, Musallam A, Hussain MS, Nejad P, Patel B, Hei H, Khoury S, Quintana F, Kivisakk P, Chitnis T, Weiner HL. Circulating MicroRNAs as biomarkers for disease staging in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2013; 73: 729-740 [PMID: 23494648 DOI: 10.1002/ana.23880]
 - 19 Long G, Wang F, Duan Q, Yang S, Chen F, Gong W, Yang X, Wang Y, Chen C, Wang DW. Circulating miR-30a, miR-195 and let-7b associated with acute myocardial infarction. *PLoS One* 2012; 7: e50926 [PMID: 23236408 DOI: 10.1371/journal.pone.0050926]
 - 20 Zuo Z, Calin GA, de Paula HM, Medeiros LJ, Fernandez MH, Shimizu M, Garcia-Manero G, Bueso-Ramos CE. Circulating microRNAs let-7a and miR-16 predict progression-free survival and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2011; 118: 413-415 [PMID: 21602527 DOI: 10.1182/blood-2011-01-330704]
 - 21 Jia SZ, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2013; 28: 322-330 [PMID: 23203215 DOI: 10.1093/humrep/des413]
 - 22 Yamada H, Suzuki K, Ichino N, Ando Y, Sawada A, Osakabe K, Sugimoto K, Ohashi K, Teradaira R, Inoue T, Hamajima N, Hashimoto S. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. *Clin Chim Acta* 2013; 424C: 99-103 [PMID: 23727030 DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.021]
 - 23 刘建强, 高军, 任艳, 王小玮, 王卫卫, 路华. 血浆 miR-21 对胰腺癌的诊断价值. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 860-863
 - 24 Heegaard NH, Schetter AJ, Welsh JA, Yoneda M, Bowman ED, Harris CC. Circulating micro-RNA expression profiles in early stage nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130: 1378-1386 [PMID: 21544802 DOI: 10.1002/ijc.26153]
 - 25 桂银莉, 张金平, 李建生, 王静. 血浆中 miR-144 直接扩增在大肠癌非侵入性诊断中的应用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1066-1070
 - 26 Dickinson BA, Semus HM, Montgomery RL, Stack C, Latimer PA, Lewton SM, Lynch JM, Hullinger TG, Seto AG, van Rooij E. Plasma microRNAs serve as biomarkers of therapeutic efficacy and disease progression in hypertension-induced heart failure. *Eur J Heart Fail* 2013; 15: 650-659 [PMID: 23388090 DOI: 10.1093/eurjhf/hft018]
 - 27 Sun Y, Zhang K, Fan G, Li J. Identification of circu-

- lating microRNAs as biomarkers in cancers: what have we got? *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 2121-2126 [PMID: 23087086 DOI: 10.1515/cclm-2012-0360]
- 28 Allegra A, Alonci A, Campo S, Penna G, Petrun-garo A, Gerace D, Musolino C. Circulating mi-croRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review). *Int J Oncol* 2012; 41: 1897-1912 [PMID: 23026890 DOI: 10.3892/ijo.2012.1647]
- 29 Guo L, Chen C, Shi M, Wang F, Chen X, Diao D, Hu M, Yu M, Qian L, Guo N. Stat3-coordinated Lin-28-let-7-HMGA2 and miR-200-ZEB1 circuits initiate and maintain oncostatin M-driven epithelial-mesenchymal transition. *Oncogene* 2013 Jan 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23318420 DOI: 10.1038/onc.2012.573]
- 30 Feng B, Wang R, Chen LB. Review of miR-200b and cancer chemosensitivity. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 397-402 [PMID: 22795796 DOI: 10.1016/j.biopha.2012.06.002]
- 31 Liu Y, Sánchez-Tilló E, Lu X, Huang L, Clem B, Telang S, Jenson AB, Cuatrecasas M, Chesney J, Postigo A, Dean DC. Sequential inductions of the ZEB1 transcription factor caused by mutation of Rb and then Ras proteins are required for tumor initiation and progression. *J Biol Chem* 2013; 288: 11572-11580 [PMID: 23443660 DOI: 10.1074/jbc.M112.434951]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

TGF- β 在肝细胞癌转移中的作用

张颖慧, 董向前, 邹玉, 乌剑利, 白丽萍, 刘晶华, 王敏

■背景资料

转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)是一类功能复杂的细胞因子, TGF- β 对多种上皮性肿瘤细胞的体外增殖起负调控作用, 导致肿瘤的发生。最近又发现TGF- β 在肿瘤进展期能够促进肿瘤侵袭和转移。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)早期临床症状及体征不明显, 大多数患者就诊时已发生转移, 故疗效不理想, 治愈率低, 即使肝根治性切除术后5年内仍有60%-70%的患者出现转移复发, 转移性肝癌的早期诊断是提高患者长期生存率的关键之一。TGF- β 在肿瘤的浸润转移中扮演何种角色, 目前研究并不清楚。

■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

张颖慧, 邹玉, 白丽萍, 刘晶华, 王敏, 云南省第二人民医院消化内科 云南省昆明市 650021

董向前, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

乌剑利, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝胆外科 湖北省武汉市 430030

张颖慧, 主治医师, 主要从事肝脏病学相关的研究。

作者贡献分布: 张颖慧与董向前对此文所作贡献均等; 此课题由张颖慧、董向前、王敏及邹玉设计; 病例收集由白丽萍与刘晶华完成; 研究过程由张颖慧与董向前操作完成; 统计数据分析由乌剑利完成; 图片分析由张颖慧完成; 本论文写作由张颖慧与董向前完成。

通讯作者: 王敏, 主任医师, 650021, 云南省昆明市青年路176号, 云南省第二人民医院消化内科。

wangminhonghui@163.com

收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-09

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Role of TGF- β in metastasis of hepatocellular carcinoma

Ying-Hui Zhang, Xiang-Qian Dong, Yu Zou, Jian-Li Wu, Li-Ping Bai, Jing-Hua Liu, Min Wang

Ying-Hui Zhang, Yu Zou, Li-Ping Bai, Jing-Hua Liu, Min Wang, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, Yunnan Province, China

Xiang-Qian Dong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Jian-Li Wu, Department of Hepatobiliary Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 650032, Hubei Province, China

Correspondence to: Min Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yunnan Province, 176 Qingnian Road, Kunming 650021, Yunnan Province, China. wangminhonghui@163.com

Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-09

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the role of transforming growth factor- β (TGF- β) derived from regulatory T cells in metastasis of hepatocellular carcinoma.

METHODS: Forty-eight primary liver cancer patients without metastasis, 32 liver cancer patients with distant metastasis (17 cases of lung metastasis and 15 cases of brain metastasis), and 54 healthy subjects were included in this study. Serum concentrations of interleukin-10 (IL-10), IL-17A, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and TGF- β

were measured by ELISA. Levels of TGF- β in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and regulatory T cells were determined by flow cytometry and RT-PCR, respectively.

RESULTS: Serum levels of TNF- α and TGF- β were significantly increased in liver cancer patients with metastasis compared with normal controls. Serum level of TGF- β was significantly higher in liver cancer patients with metastasis than in liver cancer without metastasis and normal controls (both $P < 0.05$). Furthermore, we confirmed that TGF- β in liver cancer patients with metastasis was derived from regulatory T cells by quantitative real-time PCR and flow cytometry.

CONCLUSION: TGF- β has a dual role in tumorigenesis; it acts as a tumor suppressor in early stage but promotes tumor cell invasion and metastasis in advanced stage. High level of TGF- β was found only in liver cancer patients with metastasis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Transforming growth factor- β ; Regulatory T cells

Zhang YH, Dong XQ, Zou Y, Wu JL, Bai LP, Liu JH, Wang M. Role of TGF- β in metastasis of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2508-2514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2508>

摘要

目的: 探讨外周血中调节性T细胞来源的转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)在肝细胞癌转移中的作用及临床意义。

方法: 选择原发性肝细胞癌无远端脏器转移患者48例, 伴有远端脏器转移的患者32例(其中肺部转移17例、脑部转移15例), 健康对照54例, 通过检测各组患者血清中白介素-10(interleukin-10, IL-10)、IL-17、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、

TGF- β 及外周血中调节性T细胞分泌TGF- β 的水平来分析细胞因子在肝细胞癌转移中作用。

结果: 通过酶联免疫实验(ELISA)发现发生转移的肝癌患者血清中TNF- α 、TGF- β 水平明显升高, 跟健康对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 同时发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平与未转移的肝癌患者比较差异也具有统计学意义($P<0.05$)。通过实时定量PCR以及流式细胞仪进一步确认发生转移的肝癌患者血清中高水平TGF- β 主要来源于外周调节性T细胞。

结论: TGF- β 在肿瘤发生、发展中具有双重作用: 在肿瘤发生的起始阶段TGF- β 扮演着肿瘤抑制者的角色, 而在进展期TGF- β 起着促使肿瘤细胞浸润转移的作用, 本研究通过检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平发现只有在发生转移的肝癌患者体内明显升高, 可为肝细胞癌转移的筛选与诊断提供指导信息。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝细胞癌; 转化生长因子- β ; 调节性T细胞

核心提示: 肝细胞癌转移患者外周血中调节性T细胞分泌的转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)水平明显升高, 通过流式细胞仪检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平可作为筛查肝细胞癌转移的一种简便经济方法。

张颖慧, 董向前, 邹玉, 乌剑利, 白丽萍, 刘晶华, 王敏. TGF- β 在肝细胞癌转移中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2508-2514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2508>

0 引言

原发性肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其中以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最为常见, 约占原发性肝癌的90%-95%^[1-6]。HCC早期临床症状及体征不明显, 大多数患者就诊时已发生转移, 故疗效不理想, 治愈率低, 即使肝癌根治性切除术后5年内仍有60%-70%的患者出现转移复发, 转移性肝癌的早期诊断和可能的化学干预是提高患者长期生存率的关键之一, 术后随访、定期复查必不可少。目前临床上常用方法是B超和定期甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)及甲胎蛋白异质体(lectin-reactive α -fetoprotein, AFP-L3)检测, 但诊断与预测的准确性不高, 临床尚迫切需要一些生

物学预后指标来监测肝癌患者术后转移复发的可能^[7-15]。转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)是一类功能复杂的细胞因子, TGF- β 对多种上皮性肿瘤细胞的体外增殖起负调控作用, 导致肿瘤的发生。随着研究的深入, 最近又发现TGF- β 在肿瘤进展期能够促进肿瘤侵袭和转移^[16-22]。目前对TGF- β 的研究主要集中在检测肿瘤组织中的表达以及肿瘤微环境中细胞因子的水平, 这种检测方法主要是在给患者手术切除后进行的检测, 并不能作为一种简便、经济的方法进行推广^[23-25]。本文通过ELISA法, 对患者血清中细胞因子进行筛选, 发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平明显升高, 通过进一步的研究发现主要是患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 升高, 因此通过流式细胞仪检测外周血中调节性T细胞胞内TGF- β 的水平能够为肝细胞癌的转移提供指导信息。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象为我院2011-02/2012-02收治的原发性肝细胞癌未见远端脏器转移患者48例, 已发生远端脏器转移者32例, 其中肺部转移17例, 脑部转移15例, 正常对照组为健康体检54例。肝癌诊断依据2009年中国抗癌协会肝癌专业委员会制订的标准, 所有患者均经病理学确诊。三组受检者的性别、年龄等一般情况间差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。APC-anti-human IL-10 mAbs、APC-anti-human IL-17A mAbs、APC-anti-human TNF- α mAbs、APC-anti-human TGF- β mAbs PE-anti-human CD4、PE-anti-human CD8、PE-anti-human CD14、FITC-anti-human foxp3 mAbs、流式细胞仪用破膜剂、穿孔剂购自eBioscience公司; RPMI 1640、DMEM细胞基础培养基购自Gibco BRL公司; RNA提取试剂盒购自QIAGEN公司; 人细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)、IL-17A、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和TGF- β 试剂盒购自BioLegend公司; CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cell Isolation Kit购自MiltenyiBiotec公司。

1.2 方法

1.2.1 血清采集及细胞因子测定: 所有患者均在就医确诊后取30 mL外周静脉血, 室温下静置1 h, 离心后收集上清血清液贮存于-80 °C冰箱内备用, 应用双抗体夹心ELISA法测定IL-10、IL-17A、TNF- α 、TGF- β 。

■ 研发前沿

目前对TGF- β 的研究主要集中在检测肿瘤组织中的表达以及肿瘤微环境中细胞因子的水平, 这种检测方法主要是在给患者手术切除后进行的检测, 并不能作为一种简便、经济的方法进行推广。

■ 相关报道

在肿瘤发生转移过程中TGF- β 进有利于浸润转移的基质环境形成、促进血管新生和抑制宿主抗肿瘤免疫反应等。已有研究报道如：肝硬化人群血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IL-17和IL-10水平增高，提示发生肝癌的可能性大。

表 1 研究对象分组

分组	n	男/女	年龄(岁)	肺转移(n)	脑转移(n)
未转移组	48	32/16	63.0 \pm 8.9	0	0
转移组	32	24/8	65.0 \pm 9.5	17	15
健康组	54	30/24	59.0 \pm 5.9	0	0

1.2.2 外周血单个核细胞的制备和调节性T细胞的分选：无菌抽取人静脉血20 mL，肝素抗凝，将抗凝血加到淋淋巴细胞分层液上(保持界面清晰)，室温2000 r/min，离心20 min；用毛细吸管轻轻吸出乳白色的单个核细胞，加入适量PBS，混匀，室温1500 r/min，离心10 min，弃上清，重复洗涤1次；用基础RPMI 1640 1 mL定容，计数细胞，调整细胞浓度至 1×10^7 /mL。按照调节性T细胞分选试剂盒说明书，从制备的单核细胞分离、纯化调节性T细胞。

1.2.3 流式细胞仪检测胞内细胞因子TGF- β 的分泌：制备的单个核细胞和纯化的调节性T细胞接种到24孔板， 1×10^6 细胞/孔，加2 mL RPMI 1640 完全培养基。加入PMA(50 ng/mL)、ionomycin(1 μ g/mL)和golgiplug(1 : 1000)培养5 h，收获细胞然后用PE-anti-human CD4、PE-anti-human CD8、PE-anti-human CD14、APC-anti-human foxp3 mAbs分别与细胞在4 $^{\circ}$ C孵育0.5 h，洗去未结合的抗体3次。破膜剂37 $^{\circ}$ C孵育20 min，离心收集细胞，洗去破膜剂。分别加入穿孔剂稀释的FITC-anti-human TGF- β mAbs孵育30 min，收集细胞，洗3次，上机检测荧光细胞百分比。

1.2.4 RT-PCR检测IL-10、IL-17A、TNF- α 和TGF- β 的表达：用制备的单个核细胞和调节性T细胞，依照RNA提取试剂说明书，提取RNA，然后逆转录成cDNA，以合成的CDNA为模版，进行实时定量PCR检测。细胞因子的引物如下，同时以GAPDH作为内参：GAPDH-F 5'-AC-CACAGTCCATGCCATCAC-3'；GAPDH-R 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'；IL-17-F 5'-TGCCCCAACTCCTTCCGGCT-3'；IL-17-R 5'-GGGTTCCCTGAGGGGCTGGGT-3'；IL-10-F 5'-TACGGCGCTGTCATCGATTT-3'；IL-10-R 5'-AAGGTTTCTCAAGGGGCTGG-3'；TNF- α -F 5'-CTGGGCAGGTCTACTTTGGG-3'；TNF- α -R 5'-CTGGAGGCCCCAGTTTGAAT-3'；TGF- β -F 5'-TCTTCCCCTCCGAAAATGCC-3'；TGF- β -R 5'-CAATAGGCCGCATCCAAAGC-3'。

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件进行统

计学处理，指标行正态性检验符合近似正态分布。计量资料采用mean \pm SD表示，多组间比较采用单因素方差分析，组内两两比较采用 q 检验，计数资料采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 有转移的肝癌患者，血清中的细胞因子TNF- α 、TGF- β 显著升高 通过ELISA法检测患者血清中细胞因子水平，发现在发生转移的肝癌患者血清中TNF- α 、TGF- β 明显增高，与健康对照组相比有统计学意义，而抑制性细胞因子IL-10和IL-17的水平并没有明显升高。与未转移的肝癌患者比较，发现TGF- β 在转移的肝癌患者体内升高的更加明显，且具有统计学意义(表2)。

2.2 发生转移的肝癌患者外周血单个核细胞中TNF- α 和TGF- β 的表达显著增强 在患者外周血清中发现了TNF- α 和TGF- β 水平升高，为了进一步明确这些细胞因子是否来源于外周血单个核细胞，通过分离单个核细胞，提取RNA，然后进行实时定量PCR检测，与ELISA结果相对应，在发生转移的肝癌患者单个核细胞中TNF- α 、TGF- β 表达明显增高，TGF- β 升高最为明显，跟未转移和健康对照组比都具有统计学意义(图1)。

2.3 TGF- β 的分泌主要来源于CD4阳性T细胞和单核细胞 通过上述实验发现TGF- β 在发生转移的肝癌患者体内显著增强，为了进一步明确TGF- β 的细胞来源，通过流式细胞仪检测外周血单个核细胞不同亚群细胞分泌TGF- β 的水平，发现主要是CD4阳性T细胞和单核细胞分泌TGF- β ，特别是发生转移的肝癌患者CD4阳性T细胞分泌TGF- β 显著增强(图2)。

2.4 调节性T细胞是发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 主要来源 因为CD4阳性T细胞又分为辅助性T细胞和调节性T细胞，为了进一步弄清TGF- β 的来源，首先通过流式细胞仪把CD4阳性T细胞圈门，然后再通过FOXP3确定调节性T细胞，测定其中TGF- β 的表达，发现在发生转移的肝癌患者中TGF- β 明显增强(图3A)，而在辅助性T细胞中TGF- β 并未有明显变化(数据未显示)。为了从另一个角度验证试验结果，我们通过试剂盒分选了调节性T细胞，然后通过RT-PCR检测TGF- β 的表达，同流式结果一致，RT-PCR结果再次验证在发生转移的肝癌患者中TGF- β 明显增强，跟未发生转移的肝癌患者相比有统计学意义(图3B)。

表 2 3组受检者血清中IL-10、IL-17、TNF- α 、TGF- β 的水平(pg/mL)

分组	<i>n</i>	IL-17	IL-10	TNF- α	TGF- β
健康组	54	17 \pm 3.6	47 \pm 4.6	80 \pm 8.6	89 \pm 9.6
未转移组	48	19 \pm 3.2	45 \pm 5.8	117 \pm 10.3	114 \pm 6.2
转移组	32	22 \pm 2.6	48 \pm 6.2	135 \pm 12.6	247 \pm 12.4 ^{ab}
<i>P</i> 值		NS	NS	<0.05	<0.001

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^b*P*<0.01 vs 肝癌未转移组. IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TGF: 转化生长因子; NS: 不显著.

■创新盘点

本文通过ELISA法, 对患者血清中细胞因子进行筛选, 发现发生转移的肝癌患者血清中TGF- β 水平明显升高, 创新之处在于首次通过流式细胞仪这种方便经济的方法确定了患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 升高与肝癌的转移有一定的联系.

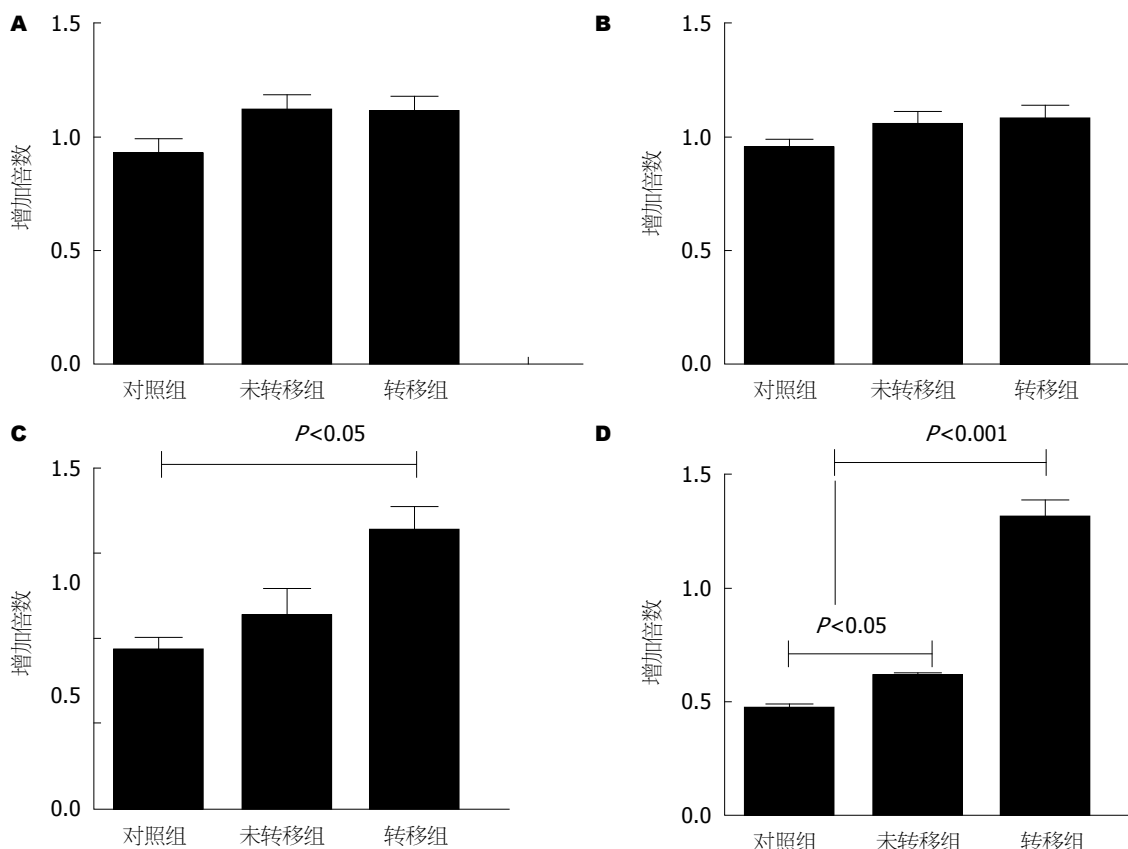


图 1 实时定量PCR检测3组受检者外周血单个核细胞中IL-17、IL-10、TNF- α 和TGF- β 的表达水平. A: 白介素-17; B: 白介素-10; C: 肿瘤坏死因子- α ; D: 转化生长因子- β . IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; TGF: 转化生长因子.

3 讨论

恶性肿瘤之所以成为致命性疾病, 主要是因为肿瘤细胞具有对临近正常组织的浸润和远处转移的能力, 因此如何能早期诊断肿瘤是否转移对于提高患者的生存率具有重要意义. 肝癌为常见的恶性肿瘤, 其中肝细胞癌占肝癌发病率的80%. 肝细胞癌容易复发、转移, 治疗效果差, 其总体5年生存率<5%^[2,17,25-28]. 目前针对肝细胞癌的血清学诊断应用最广泛的肿瘤标志物包括AFP及甲胎蛋白异质体(lectinreactive alpha-fetoprotein, AFP-L3)等. 肿瘤患者免疫防御损伤及免疫功能在疾病的早期已经开始发生变化, 已

发现很多细胞因子的表达都与肿瘤的发生发展有关, 如TNF- α 对肿瘤细胞有高度特异性, 能选择性地抑制其DNA合成; 通过受体介导性细胞内吞作用进入细胞, 然后进入溶酶体, 引起一系列生化反应, 发挥直接细胞毒效应; 损伤或阻塞肿瘤血管, 引起出血性或缺血性坏死; 增强免疫功能, 使辅助T细胞活化和B细胞分化并激活NK细胞作用. 同时也有研究认为TNF- α 在肿瘤患者血清中水平升高, 提示肿瘤已经发生转移^[29-32]; IL-10是一种公认的介导免疫抑制的细胞因子, 以同源二聚体形式发挥效应, 可抑制Th1细胞应答及其细胞因子合成, 抑制巨噬细胞的抗原提

■应用要点

本研究通过检测外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平发现只有在发生转移的肝癌患者体内明显升高, 可为肝癌细胞转移的筛选与诊断提供指导信息. 此方法可在临床应用中很快得到推广.

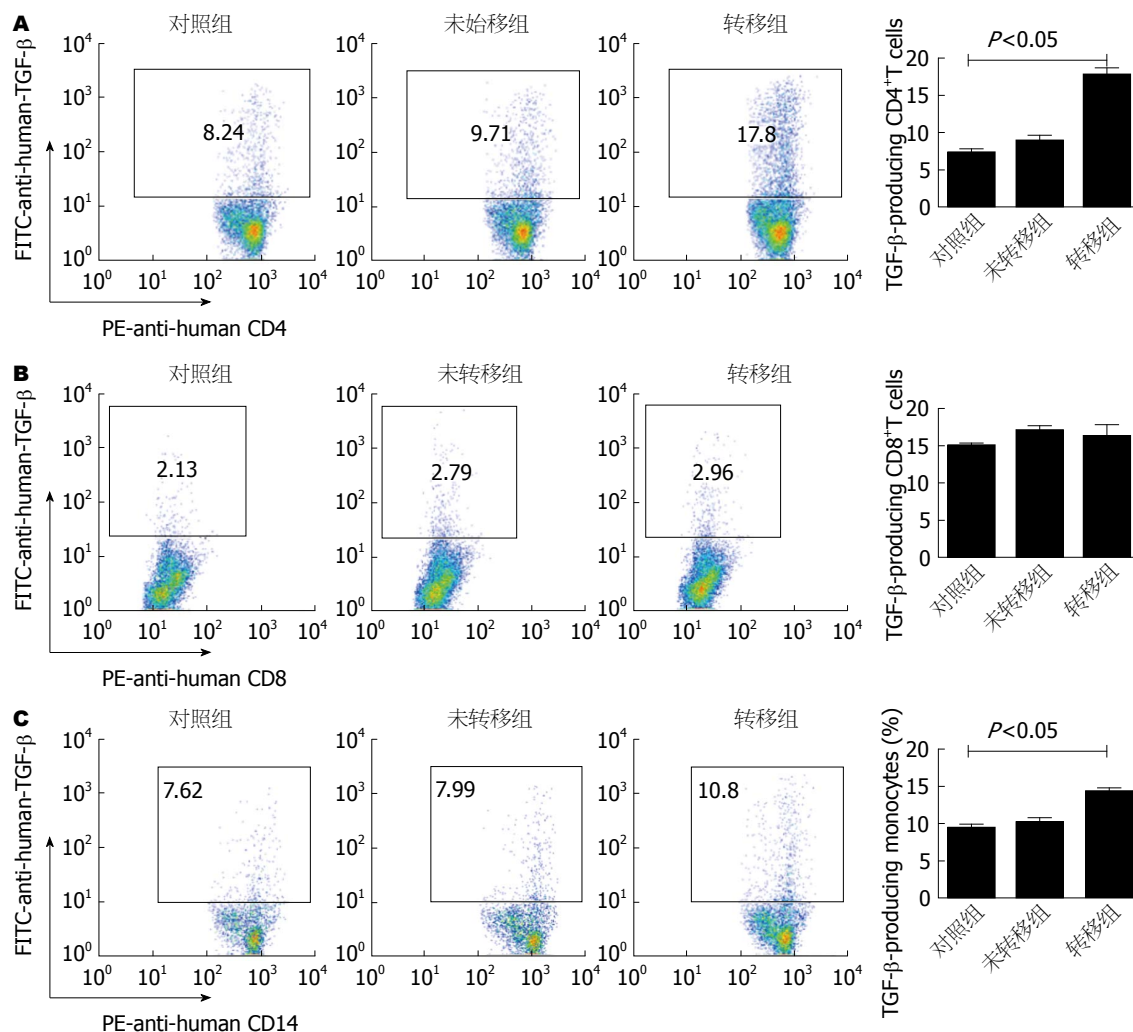


图2 流式细胞仪检测3组受检者外周血中CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞和CD14⁺单核细胞中TGF- β 的水平. A: CD4⁺ T细胞; B: CD8⁺ T细胞; C: CD14⁺单核细胞. TGF: 转化生长因子.

呈功能及其细胞因子合成, 促进B细胞增殖分化及抗体产生. IL-10是某些肿瘤细胞的生长因子, 如骨髓瘤细胞, IL-10可维持其生长和增殖. 大量研究已证实许多癌组织或细胞均可产生IL-10, 如在恶性黑色素瘤、卵巢癌和结肠癌细胞、基底细胞癌、肺癌组织、脑胶质瘤组织、结直肠癌的瘤组织、淋巴结和癌旁组织中, IL-10可能还与肿瘤转移有关^[29,33]. IL-17参与了直肠癌的发生, 同时也加剧了肿瘤的临床和病理进展, 可能是结直肠癌患者预后较差、死亡率较高和生存期较短的重要影响因素之一. 大量文献报道IL-17在肿瘤发生发展过程中发挥双刃剑的作用: 一方面, IL-17可以通过促进血管生成和肿瘤细胞的迁移促进肿瘤的生长; 另一方面, IL-17亦可促进细胞毒性T细胞的免疫应答抑制肿瘤的生长^[34,35]. 在肿瘤发生转移过程中TGF- β 有利于浸润转移的基质环境形成、促进血管新生和抑

制宿主抗肿瘤免疫反应等^[21,25,36,37]. 已有研究报道如: 肝硬化患者血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IL-17和IL-10水平增高, 提示发生肝癌的可能性大^[19,38]. 本文选择了4种细胞因子进行筛选, 发现发生转移的肝癌患者外周血清中TNF- α 和TGF- β 明显升高, 特别是TGF- β 在发生转移的肝癌患者外周血中升高更加明显, 跟未转移的肝癌和健康对照组相比都具有统计学意义. 我们通过实验设计明确了主要是调节性T细胞来源的TGF- β 在发生转移的肝癌患者体内升高, 当然我们也发现单核细胞分泌TGF- β 的能力在发生转移的肝癌患者体内也有明显增加, 但增加的幅度与调节性T细胞相比不是很明显, 因此选择调节性T细胞进行研究, 对于发生转移的肝癌患者更具有特异性. 因此通过流式细胞仪检测肝癌患者外周血中调节性T细胞分泌的TGF- β 水平, 如果发现持续升高, 结合其他生物

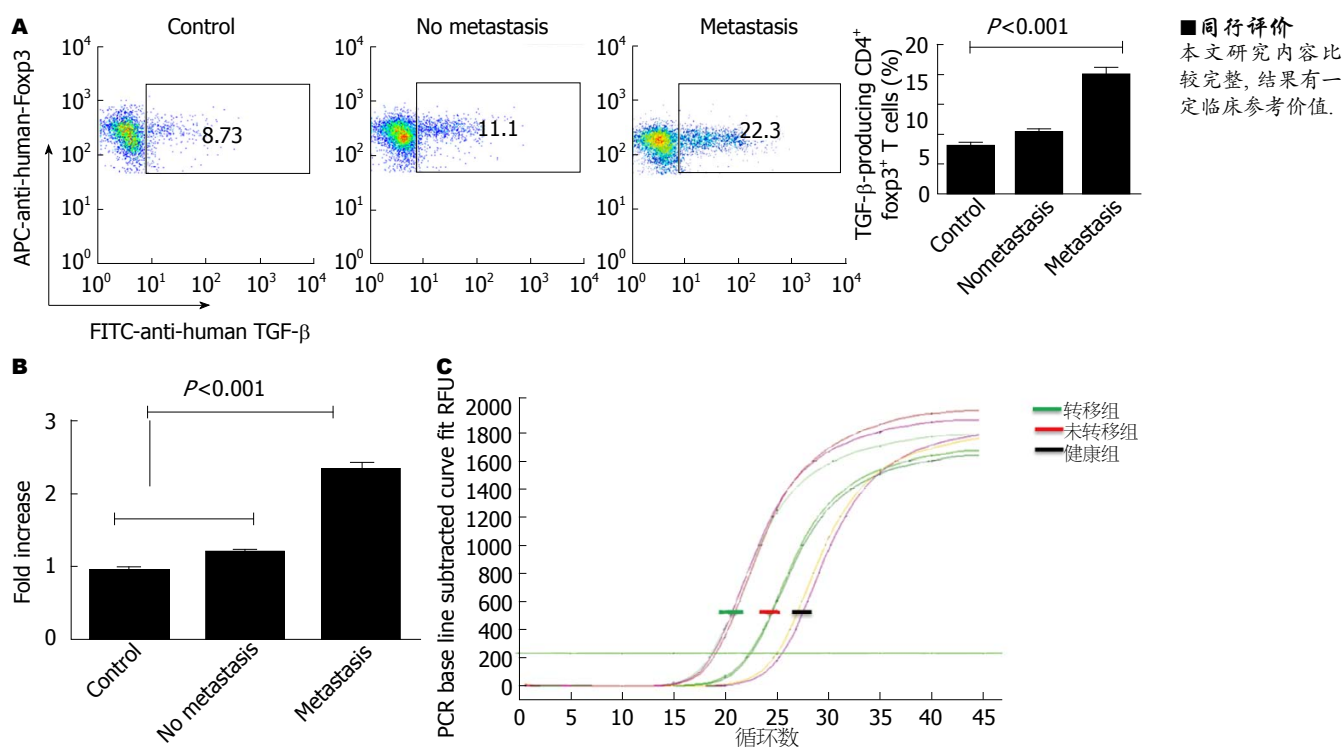


图 3 流式细胞仪和Real-time PCR检测3组受检者调节性T细胞中细胞因子TGF- β 的表达. A: 流式细胞仪; B: Real-time PCR检测不同组别TGF- β 表达扩增倍数; C: Real-time PCR显示不同组别TGF- β 扩增循环数. TGF: 转化生长因子。

学标志物和检查可为肝细胞癌转移的筛选与诊断提供指导信息。

4 参考文献

- 杨学刚, 许国辉, 吴戈. 青年人原发性肝癌诊断的研究进展. 西部医学 2012; 24: 1412-1414
- 王付强, 尹震宇, 彭友缘, 邓志刚, 王效民. 原发性肝癌并胆管癌栓的诊断和处理. 肝胆外科杂志 2012; 20: 190-192
- 独建库, 李华信. 联合检测肿瘤标志物早期诊断肝癌. 实用医药杂志 2012; 29: 502-503
- Hao MZ, Lin HL, Chen Q, Ye YB, Chen QZ, Chen MS. Efficacy of transcatheter arterial chemoembolization combined with cytokine-induced killer cell therapy on hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Chin J Cancer* 2010; 29: 172-177 [PMID: 20109346]
- Capone F, Costantini S, Guerriero E, Calemma R, Napolitano M, Scala S, Izzo F, Castello G. Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Eur Cytokine Netw* 2010; 21: 99-104 [PMID: 20478763 DOI: 10.1684/ecn.2010.0192]
- Qiu Y, Xu MB, Yun MM, Wang YZ, Zhang RM, Meng XK, Ou-Yang XH, Yun S. Hepatocellular carcinoma-specific immunotherapy with synthesized α 1,3- galactosyl epitope-pulsed dendritic cells and cytokine-induced killer cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 5260-5266 [PMID: 22219594 DOI: 10.3748/wjg.v17.i48.5260]
- 高翔, 卢启明, 孙莹, 魏小果. AFP联合AFP-L3、ALP和AFU检测在原发性肝癌诊断中的价值. 甘肃医药 2012; 31: 330-333
- 朱薇, 葛君珊, 张利强, 高海峰, 赵秋剑. AFP、CEA、CA199、CA-125联合检测对肝癌、肝硬化诊断的临床价值. 国际检验医学杂志 2012; 33: 1902-1904
- 徐桂秋, 林伟. 血清AFU、AFP、GGT联合检测在原发性肝癌诊断中的意义. 齐齐哈尔医学院学报 2012; 33: 2008-2009
- 许忠强, 谢正慧. AFP、AFU、TBA和LDH联合检测对原发性肝癌诊断的价值. 右江民族医学院学报 2012; (4): 513-515
- 朱瑜. AFP、CEA、CA199诊断乙型肝炎相关肝癌初步研究. 实验与检验医学 2011; 29: 541-542
- Hsu ML, Chen SW, Lin KH, Liao SK, Chang KS. Cytokine regulation of HIV-1 LTR transactivation in human hepatocellular carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 1995; 94: 41-48 [PMID: 7621443]
- Chung RT. Cytokine polymorphisms and hepatocellular carcinoma: to B or not to B. *Cancer* 2005; 103: 654-656 [PMID: 15641028]
- Zhao M, Wu PH, Zeng YX, Xia JC, Zhang FJ, Xian LJ, Zhang YP, Zhou K, Fan WJ, Zhang L, Gao F, Zhou QM. [Cytokine-induced killer cell fusion to lower recurrence of hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization sequentially combined with radiofrequency ablation: a randomized trial]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 1823-1828 [PMID: 17054858]
- Cheng KS, Tang HL, Chou FT, Chou JW, Hsu CH, Yu CJ, Kao ST, Li TC. Cytokine evaluation in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 1105-1110 [PMID: 19760951]
- 张少华, 王红. 肝癌肺部转移的CT诊断. 现代医用影像学 2012; 21: 140-142
- 赵峰, 许顺良, 林坚, 郑继爱. 26例混合细胞性肝癌的CT和MRI诊断. 中国临床医学影像杂志 2010; 21: 804-806
- 李洁羽, 黎巧连, 彭峰, 谷伟伟, 黄传钟, 汤志伟, 陈强, 叶韵斌. 流式细胞微球阵列术检测肝癌组织中细胞因子水平及其意义. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5:

- 6657-6661
- 19 孔丽, 姚树坤, 张瑞星, 殷飞, 王娜. 原发性肝癌患者血清TGF β 1、IL-12、IFN γ 等细胞因子水平及临床演变的关系. *临床肝胆病杂志* 2006; 22: 247-249
 - 20 Kiyono K, Suzuki HI, Matsuyama H, Morishita Y, Komuro A, Kano MR, Sugimoto K, Miyazono K. Autophagy is activated by TGF-beta and potentiates TGF-beta-mediated growth inhibition in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2009; 69: 8844-8852 [PMID: 19903843 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4401]
 - 21 Baek JY, Morris SM, Campbell J, Fausto N, Yeh MM, Grady WM. TGF-beta inactivation and TGF-alpha overexpression cooperate in an in vivo mouse model to induce hepatocellular carcinoma that recapitulates molecular features of human liver cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 1060-1071 [PMID: 20020490 DOI: 10.1002/ijc.25127]
 - 22 Yang P, Li QJ, Feng Y, Zhang Y, Markowitz GJ, Ning S, Deng Y, Zhao J, Jiang S, Yuan Y, Wang HY, Cheng SQ, Xie D, Wang XF. TGF- β -miR-34a-CCL22 signaling-induced Treg cell recruitment promotes venous metastases of HBV-positive hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2012; 22: 291-303 [PMID: 22975373 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.07.023]
 - 23 Fransvea E, Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. Targeting transforming growth factor (TGF)-betaRI inhibits activation of beta1 integrin and blocks vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 839-850 [PMID: 19115199 DOI: 10.1002/hep.22731]
 - 24 Lin GH, Wang J, Li SH, Wang J, Xu L, Li SP. Relationship and clinical significance of TGF-beta1 expression with Treg cell infiltration in hepatocellular carcinoma. *Chin J Cancer* 2010; 29: 403-407 [PMID: 20346216]
 - 25 Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. The TGF- β signaling pathway as a pharmacological target in a hepatocellular carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4148-4154 [PMID: 22630081]
 - 26 姚登福. 炎症性细胞因子介导的信号通路与肝癌. *南通大学学报(医学版)* 2010; 23: 1-5
 - 27 Giannelli G, Mazzocca A, Fransvea E, Lahn M, Antonaci S. Inhibiting TGF- β signaling in hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815: 214-223 [PMID: 21129443 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.11.004]
 - 28 Peng BG, Liu SQ, Kuang M, He Q, Totsuka S, Huang L, Huang J, Lu MD, Liang LJ, Leong KW, Ohno T. Autologous fixed tumor vaccine: a formulation with cytokine-microparticles for protective immunity against recurrence of human hepatocellular carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 363-368 [PMID: 11985784]
 - 29 Yang Y, Luo C, Feng R, Bi S. The TNF- α , IL-1 β and IL-10 polymorphisms and risk for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 947-952 [PMID: 21107607 DOI: 10.1007/s00432-010-0959-8]
 - 30 Chen X, Zhang L, Chang Y, Shen T, Wang L, Zhuang H, Lu F. Association of TNF-alpha genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a Han Chinese population. *Int J Biol Markers* 2011; 26: 181-187 [PMID: 21928250 DOI: 10.5301/IJBM.2011.8580]
 - 31 Babu LH, Perumal S, Balasubramanian MP. Myrtenal, a natural monoterpene, down-regulates TNF- α expression and suppresses carcinogen-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Mol Cell Biochem* 2012; 369: 183-193 [PMID: 22763672 DOI: 10.1007/s11010-012-1381-0]
 - 32 Yang Y, Qiu XQ, Yu HP, Zeng XY, Bei CH. TNF- α -863 polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma. *Exp Ther Med* 2012; 3: 513-518 [PMID: 22969921]
 - 33 Nieters A, Yuan JM, Sun CL, Zhang ZQ, Stoecklmaier J, Govindarajan S, Yu MC. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association. *Cancer* 2005; 103: 740-748 [PMID: 15643599]
 - 34 Kuang DM, Peng C, Zhao Q, Wu Y, Zhu LY, Wang J, Yin XY, Li L, Zheng L. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8 $^{+}$ T cells in hepatocellular carcinoma patients. *J Immunol* 2010; 185: 1544-1549 [PMID: 20581151]
 - 35 Gu FM, Li QL, Gao Q, Jiang JH, Zhu K, Huang XY, Pan JF, Yan J, Hu JH, Wang Z, Dai Z, Fan J, Zhou J. IL-17 induces AKT-dependent IL-6/JAK2/STAT3 activation and tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer* 2011; 10: 150 [PMID: 22171994 DOI: 10.1186/1476-4598-10-150]
 - 36 Reichl P, Haider C, Grubinger M, Mikulits W. TGF- β in epithelial to mesenchymal transition and metastasis of liver carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4135-4147 [PMID: 22630087]
 - 37 Shi M, Yao L, Wang FS, Lei ZY, Zhang B, Li WL, Liu JC, Tang ZR, Zhou GD. [Growth inhibition of human hepatocellular carcinoma xenograft in nude mice by combined treatment with human cytokine-induced killer cells and chemotherapy]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2004; 26: 465-468 [PMID: 15555334]
 - 38 王华, 张天一, 朱昌来, 张春辉, 倪启超. 肝癌患者PBMC中TH1/TH2类细胞因子mRNA表达. *肿瘤防治研究* 2006; 33: 26-29

编辑 田滢 电编 鲁亚静



人大肠癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异

吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时

吴丽云, 文彬, 付道时, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

胡丰良, 广州中医药大学第一附属医院肛肠科 广东省广州市 510405

刘金元, 广州中医药大学测试中心 广东省广州市 510405

吴丽云, 在读硕士, 主要从事大肠癌表观遗传学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173257

作者贡献分布: 此课题由文彬与吴丽云设计; 吴丽云负责操作与完成论文的撰写; 胡丰良提供组织标本; 刘金元负责免疫组织化学的数据采集; 付道时参与一部分实验的操作。

通讯作者: 文彬, 研究员, 510405, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wenbin@gzucm.edu.cn

电话: 020-36585077

收稿日期: 2013-05-07 修回日期: 2013-06-11

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions

Li-Yun Wu, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu, Dao-Shi Fu

Li-Yun Wu, Bin Wen, Dao-Shi Fu, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Feng-Liang Hu, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Jin-Yuan Liu, Test Center of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173257

Correspondence to: Bin Wen, Researcher, Piwei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wenbin@gzucm.edu.cn

Received: 2013-05-07 Revised: 2013-06-11

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To detect the expression of DNA methyltransferases (DNMTs) in tissues at different distances from colorectal cancer lesions.

METHODS: Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression of DNMTs in 25 colorectal cancer specimens and matched tumor-adjacent tissues (> 5 cm apart from the tumor and 2 cm apart from the tumor) and normal tissues (> 10 cm apart from the tumor). None

of the patients received preoperative treatments such as radiotherapy or chemotherapy.

RESULTS: The corrected absorbance of DNMT1 detected by immunohistochemistry in tissues > 10, > 5 and 2 cm apart from the tumor was 0.359484 ± 0.037511 , 0.460941 ± 0.032146 and 0.498767 ± 0.021143 , respectively, showing an upward-trend ($P < 0.05$). The corresponding relative expression levels of DNMT1 detected by Western blot were 0.7173, 0.7418 and 0.8296. Expression of DNMT3A in tissues > 5 and > 10 cm apart from the tumor was significantly higher than that in tissues 2 cm apart from the tumor (both $P < 0.05$), although expression of DNMT3A showed no significant difference between tissues > 5 and > 10 cm apart from the tumor ($P > 0.05$). Expression of DNMT3B in the above tissues was similar to that of DNMT3A.

CONCLUSION: Up-regulation of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B may play a significant role in the occurrence of colorectal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; DNA methyltransferases

Wu LY, Wen B, Hu FL, Liu JY, Fu DS. DNMTs are differentially expressed in tissues at different distances from colorectal cancer lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2515-2521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2515>

摘要

目的: 检测DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)在距大肠癌病灶不同距离组织中的表达差异, 以探讨其表达在大肠癌癌变早期的意义。

方法: 实验共取25例中分化结肠癌标本, 从距大肠癌病灶近端10、5、2 cm获取组织样本, 并分别命名为1、2、3号位组织样本, 用免疫组织化学以及Western blot检测3个部位组织中DNMT的表达及分布情况。

■背景资料

近年来, 对肿瘤启动机制的研究认为, 表观遗传在肿瘤的启动中发挥了关键性的作用。DNA甲基化是表观遗传修饰的重要内容, 也是肿瘤发生的早期分子事件。DNA甲基化、组织微环境、组织架构共同决定了肿瘤的发生和生长。

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

■研究前沿

研究发现, 肿瘤的发生常伴随着DNA的异常甲基化, 但不同肿瘤中, DNA甲基化的变化却不相同. DNMT作为DNA甲基化的关键酶, 已经被用作大肠癌临床检测指标.

结果: 免疫组织化学实验显示DNMT1在1、2、3号位中的校正吸光度值(corrected absorbance, CA)分别为 0.359484 ± 0.037511 、 0.460941 ± 0.032146 、 0.498767 ± 0.021143 , 呈递增趋势($P < 0.05$). Western blot实验结果也显示DNMT1在1、2、3号位中的表达依次增加, 其在3个部位的相对表达量分别为0.7173、0.7418、0.8296. DNMT3A在2、3号位的表达均高于1号位($P < 0.05$), 但在2、3号位之间的表达差异无统计学意义($P > 0.05$). DNMT3B的表达变化与DNMT3A相同.

结论: DNMTs在1、2、3号位表达增加, 说明DNMTs在大肠癌的启动及演进过程中发挥了重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 大肠癌; DNA甲基转移酶

核心提示: DNA甲基化是肿瘤发生的一条重要机制, 组织架构和微环境的变化对肿瘤的形成至关重要, 本文以大肠的组织架构的基本结构单元-隐窝为基本研究单位, 研究DNA甲基化的关键酶DNMT在大肠癌变过程中的表达变化.

吴丽云, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 付道时. 人大肠癌旁不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达差异. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2515-2521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2515>

0 引言

对于肿瘤, 人类尚无良方, 目前最为行之有效的方法就是: 早发现、早诊断、早治疗. 研究肿瘤恶变前期和早期生物学特征, 寻找早期病变的分子标志、探求肿瘤的启动分子机制, 一直是肿瘤研究领域的重点. 随着后基因组时代的到来, 越来越多的研究表明, DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质异构等表观遗传学转换是细胞增殖分化失衡的早期事件, 早于基因突变和基因组不稳定性的发生^[1].

DNA甲基化是表观遗传学的重要内容, 也是肿瘤发生的一条重要机制^[2]. 机体内所有的DNA甲基化(去甲基化)过程都在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)催化下完成, DNA异常甲基化的一个潜在机制就是DNMT发生过调节^[3,4].

从组织病理学角度, 肠道隐窝是肠道细胞结

构的基本单元, 也是承载肠道病变的基本单元. 隐窝底部肠道干细胞的增殖、分化是肠黏膜更新的主要细胞学基础^[5]. 肠道干细胞在向上移行的同时不断分化成为成熟的杯状细胞和柱状细胞, 以补充脱落的肠道上皮细胞, 维持肠黏膜细胞的正常更新. 因此本研究通过免疫组织化学和蛋白质印迹法观察不同部位组织中DNA甲基转移酶的表达分布, 进行探讨DNMTs在大肠癌变过程中表达的变化在大肠癌变启动过程中的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 标本取自广州中医药大学附属医院及广州军区总医院2012-05/2013-02手术切除的25位中分化结肠癌患者, 其中男性13例, 女性12例, 平均年龄 57.8 ± 10.9 岁. 所有大肠癌患者均为散发性大肠癌, 且术前均未经任何放、化疗, 所有病例均经两位以上病理医师确诊. 标本切取位置如图1所示, 每例依次取距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm的组织, 分别标记为1、2和3号位. 结肠癌沿远近两端直接浸润一般不超过2 cm, 但沿结肠旁淋巴结却可向两侧扩展8 cm以上, 1号位距离肿瘤近端10 cm属于手术切除的安全距离, 在本研究中我们视其为正常组织; 3号组织为距离病灶边缘2 cm的癌旁组织样本; 2号组织为1和3号位之间的组织样本. 兔抗人DNMT1多克隆抗体(批号bs-0678R)、兔抗人DNMT-3A多克隆抗体(批号bs-0497R)、DNMT-3B(批号bs-0301R)均购自北京博奥森生物技术有限公司. 免疫组织化学检测试剂(SP法)及二氨基联苯胺(3, 3'-diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司. PVDF膜(MIL-LIPORE), SDS凝胶加样缓冲液, 三去污剂裂解缓冲液, 脱脂奶粉, 0.1%PBST.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色及结果判定: 所有标本均经4%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 采用4 μ m厚连续切片. 常规脱蜡水化, PBS冲洗, 3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 微波修复15 min, 加入兔抗人一抗(抗体稀释度为1:300), 4 $^{\circ}$ C过夜; PBS冲洗2 min \times 3次, 滴加相应二抗37 $^{\circ}$ C温箱孵育30 min, 具体步骤按试剂盒说明书操作. DAB显色, 苏木精复染, 常规乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察结果. 每例标本均用PBS代替一抗作阴性对照. 应用IPP6.0病理图象分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度(A)值, 每张切片随机测定6个视野, 同时测

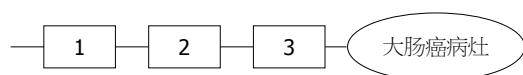


图1 标本取材部位示意图. 1号位: 距离病灶>10 cm; 2号位: 距离病灶>5 cm; 3号位: 距离病灶>2 cm.

定同一张切片上组织的 A 值作为背景, 免疫反应产物的 A 值减去背景 A 值得到校正的 A 值(CA 值), 即为各阳性产物的实际吸光度值, 然后求平均值作为该样本的 CA 值. 用 CA 值进行分析和比较, 以避免染色过程中的非特异性染色等导致的误差.

1.2.2 用Western blot方法检测DNMT1、DNMT3A及DNMT3B的表达: 每100 mg组织中加入1 mL蛋白裂解液和10 μ L 100 mmol/L的PMSF. 研磨后将样品转移到1.5 mL离心管, 冰里放置30 min, 然后4 $^{\circ}$ C、12000 r/min高速离心30 min. 取20 μ L的上清液即细胞裂解液, 并加5 μ L 5 \times 电泳上样缓冲液(预染Marker取5 μ L), 沸水浴5 min, 12000 r/min离心3 min, 去除不溶性蛋白, 上样, 电泳约1.5 h, 取分离胶进行转膜, 取出PVDF膜, 去离子水洗涤, 洗液平衡后用5%脱脂奶粉室温封闭90 min, 加已稀释好的兔抗DNMT1(1:500), DNMT3A(1:500), DNMT3B(1:500), 4 $^{\circ}$ C过夜. PBS洗膜, 第1次15 min, 后3次每次5 min. 加5 mL 1:5000稀释的羊抗兔二抗, 室温反应1 h, TBST洗膜后, ECL增强发光, X线曝光5 min. 以 β -actin蛋白作为内参对照. 采用WO-9413B型凝胶成像系统自带软件Gelpro32来分析胶片中的蛋白条带.

统计学处理 各组实验数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0统计软件, 计量资料进行均数间比较采用 t 检验或方差分析. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 组织形态学观察与分析 1987年Bird和Good^[6]在研究啮齿动物的大肠癌模型中发现了异常隐窝病灶(aberrant crypt foci, ACF). 1991年ACF被确认亦存在于人类结肠中^[7,8]. 多数学者认为ACF可能是大肠癌发生的最早期事件, 并把ACF作为大肠癌早期诊断的观察指标之一^[9-11]. ACF是由单个或一组异常隐窝构成的病灶, 其形态学特征与正常黏膜相比, 有以下特征: 隐窝增大变厚, 呈锯齿状; 裂隙状管腔, 开口呈椭圆状; 上皮细胞层增生染色加深; 细胞核大有异型性^[12,13]. 此后, 许多研究者对ACF发生过程中的遗传和表

观遗传变化进行了研究^[14-16]. 研究表观遗传与遗传的改变, 对于大肠癌早期诊断、预后及个体化的医疗都具有十分重要的意义. 在本研究中, 我们首先比较了3个不同部位组织中ACF的存在情况及形态特征.

通过HE染色, 我们观察到, 在1号位组织中, 隐窝排列整齐, 腺腔直径正常, 隐窝中的细胞呈单层排列且细胞核大小正常, 上皮层无明显改变(图2A, B). 在最靠近病灶的2、3号部位组织中, 依肿瘤恶性程度不同, 隐窝或完全消失或部分残存, 对于残存的ACF, 越接近病灶的组织, 隐窝形态变化越大, 而且ACF数量越多. 在2号位组织中, 我们观察到有的隐窝较大, 管腔呈锯齿状, 细胞核增大拉长, 表现出拥挤、分层的状态, 均属典型的ACF特征(图2C, D). 3号位组织同2号位组织一样, 也有ACF出现, 其隐窝异型增生明显, 腺管染色加深, 隐窝直径异常增大, 上皮层增厚, 隐窝内细胞的细胞核增大, 细胞排列得拥挤, 还出现分层、极性消失的情况(图2E, F), 且ACF数量较2号位组织多. Shpitz等^[17]在对74例散发性大肠癌ACF的分布规律进行研究后也发现大肠癌远端的ACF多于近端部分.

2.2 免疫组织化学结果 我们用免疫组织化学对3个部位组织中DNA甲基转移酶的表达分布进行分析, 结果显示DNMT1表达可见于1、2和3号位组织中. 其中在距离病灶最远的1号位组织中, 隐窝结构清晰、排列整齐, 隐窝内细胞单层排列, DNMT1表达较少, 且表达主要分布在隐窝之间的间质中表达(图3A), 而在2号位中存在ACF, 隐窝口变大, 隐窝内的细胞出现分层而非单层状态, DNMT1在其中的表达较1号位高, 且在隐窝间间质及隐窝中均有表达(图3B); 3号位中(图3C), ACF数量较2号位多, 如图3C中隐窝内细胞密集呈现拥挤、分极性消失的状态, DNMT1这个部位组织中的表达较1、2号位高. 其在3个部位的校正光密度值(CA)分别为 0.359484 ± 0.037511 、 0.460941 ± 0.032146 、 0.498767 ± 0.021143 , 呈逐渐递增的趋势($P<0.05$, 图4). DNMT3A主要表达于隐窝之间的间质中, 在隐窝内表达较少, 其在1、2和3号位中的表达量分别为 0.3512 ± 0.03775 、 0.404684 ± 0.039239 、 0.438148 ± 0.020438 , 其表达依次增高, 在2和3号位的表达都高于1号位(图3D-F, $P<0.05$), 但在2和3号位之间的表达差异没有统计学意义($P>0.05$, 图4).

DNMT3B在隐窝内及隐窝之间的间质中

■ 相关报道

Tamura等研究发现了隐窝异常病灶(aberrant crypt foci, ACF). 许多学者都认为ACF是结肠腺瘤的前体, 是大肠癌的生物标志. 对肿瘤启动的研究发现肿瘤发生的机制之一一是DNMT异常表达从而引起的DNA异常甲基化.

■创新盘点

近年来对肿瘤中DNMT异常表达的研究大多以癌组织、癌旁组织和正常组织为研究对象,研究DNMT在3种组织中的表达变化,而本实验在不同组织的基础上以隐窝为基本研究单位,结合组织结构、微环境,研究DNMT在癌变过程中的表达变化。

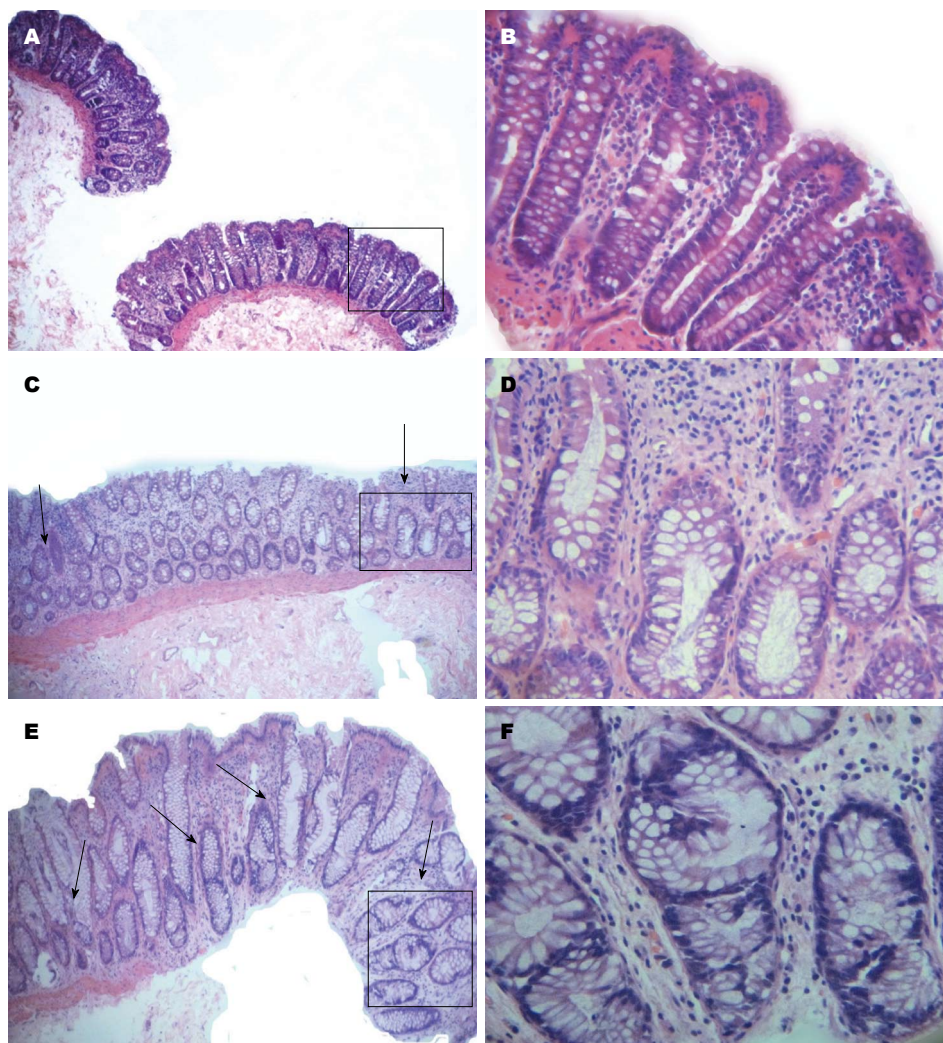


图2 距离大肠癌病灶不同距离组织HE染色结果(箭头处为异常隐窝病灶). A, C, E: 1, 2, 3号位($\times 100$); B, D, F: 1, 2, 3号位($\times 400$).

都有表达,且其在3个部位组织的表达变化与DNMT3A类似,在2和3号位的表达都高于1号位(图3G-I, $P < 0.05$),但在2和3号位之间的表达差异没有统计学意义($P > 0.05$),其在3个部位组织表达量分别为 0.471217 ± 0.026454 、 0.510019 ± 0.032516 、 0.540606 ± 0.036183 。

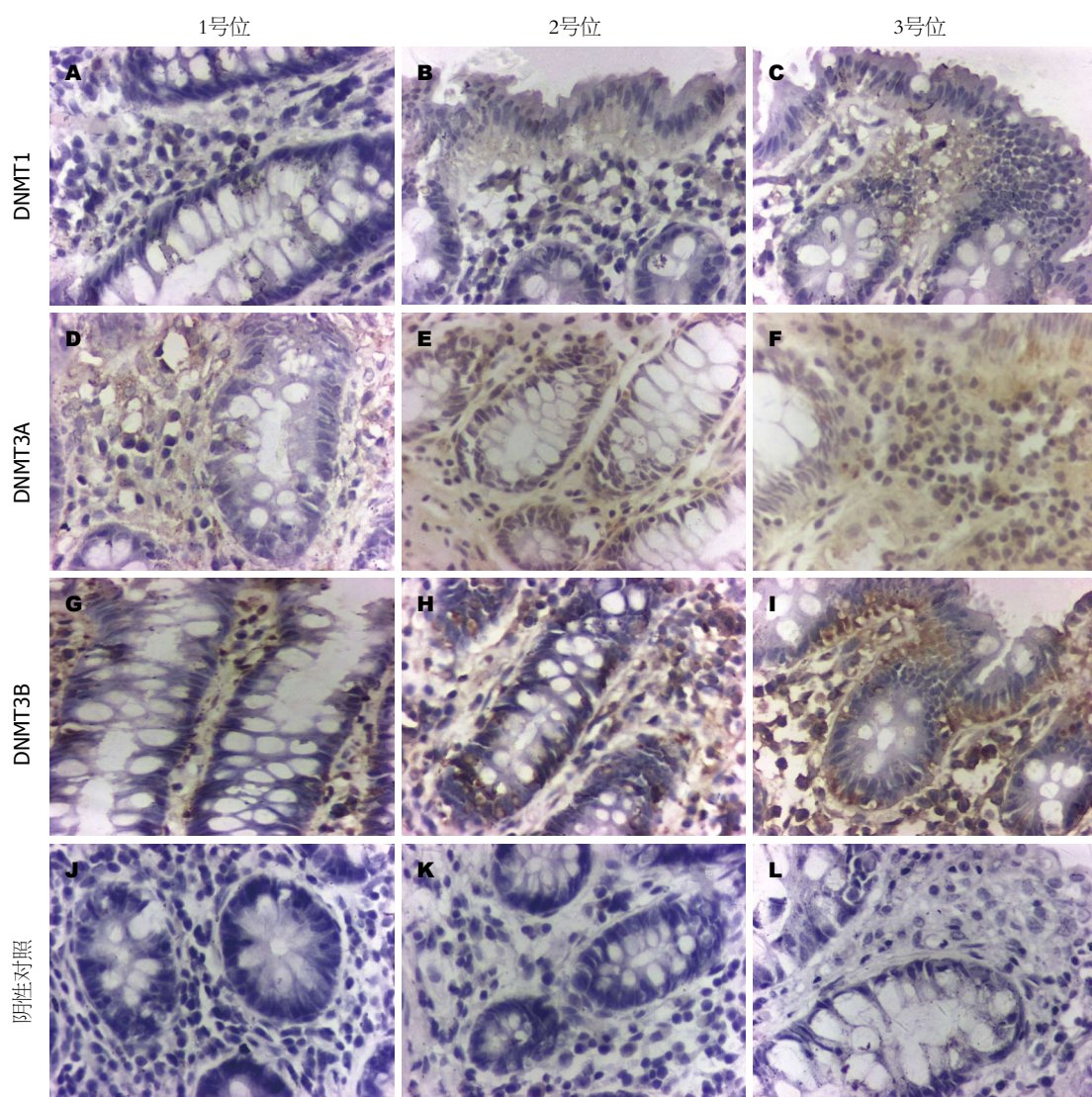
2.3 Western blot结果 分别取3个部位新鲜组织样本,用Western blot检测组织中DNMTs相对表达量,结果表明DNMT1在3个部位的相对表达量分别为0.7173、0.7418、0.8296, DNMT3A和DNMT3B在3个部位的相对表达分别为0.8091、0.8804、0.9051; 0.6405、0.7023、0.8445都呈现依次增加的趋势(图5)。

3 讨论

近十几年来,肿瘤细胞中心观指导下的肿瘤研究模式受到了巨大冲击^[18-20]:首先,以肿瘤相关机制为基础的肿瘤组织原则的构建,使人们意识到

肿瘤其实就是一个不断发展的紊乱器官;正常组织可以精确地产生、释放、控制促进生长信号,以维持正常组织的架构和功能.组织架构和内稳态的转变是肿瘤启动的早期信号^[21-25],其中的机制可能是组织结构的重塑改变了组织微环境.其次,表观遗传调控在肿瘤的发生发展中发挥了关键性的作用,表观遗传调控决定了组织微环境的重塑,而微环境的重塑又转变了组织微架构,反过来,组织结构的重塑又进一步转变了组织微环境,这些都决定了肿瘤的形成和生长^[26].对于大肠,隐窝是上皮组织的基本结构单元,也是装载这一过程的基本单元。

Tamura等^[27]通过扫描电镜观察不同病变状态下的大肠隐窝,发现处于不同病变时期的隐窝形态学上有很大差别,他们的体积、形状、表面光滑程度以及有无分支都与正常隐窝不同.这些异常的隐窝单独或聚集在一起,就形成了ACF. Gupta和Schoen^[28]对ACF与人类大肠癌的



■应用要点
DNMT结合ACF可作为大肠癌临床检查指标, 比二者单独作为检测指标来检测大肠癌更加准确。

图3 DNMTs免疫组织化学结果($\times 400$)。A-C: DNMT1; D-F: DNMT3A; G-I: DNMT3B。DNMT: DNA甲基转移酶。

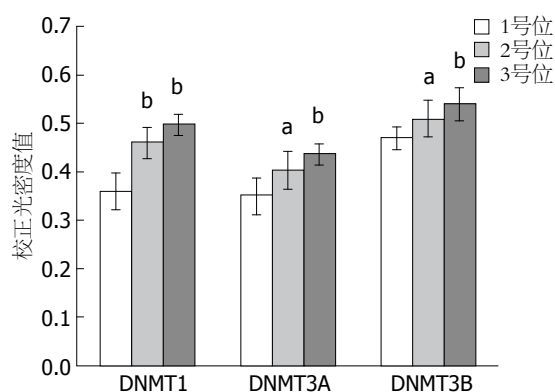


图4 免疫组织化学检测DNMTs在3个部位表达的差异。 $^a P < 0.05$, $^b P < 0.01$ vs 1号位。DNMT: DNA甲基转移酶。

发生相关文献进行了整理, 认为流行病学和分子生物学的研究都支持ACF是结肠腺瘤的前体, 是大肠癌的生物标识。

我们从距离大肠癌病灶近端不同距离取的标本中也发现了这一点, 我们的研究是以隐窝结构为基础, 在正常组织中, 罕见ACF, 隐窝长度、大小及管腔开口均正常, 隐窝内细胞单层排列, 具有极性。而在2号位及3号位组织中, 都可见ACF, 且3号位组织中的ACF数量较2号位中多, 在这两种组织中, 隐窝可见直径、长度增大, 隐窝开口锯齿状、有分支, 隐窝内细胞排列杂乱拥挤甚至分层而极性消失。我们以ACF为基本研究单元, 在此基础上研究肿瘤的表现遗传转换对促肿瘤微环境进行再教育, 对靶向治疗肿瘤有重要意义。

表观遗传学是近15年来最令人兴奋, 也是发展最迅速的领域, 许多学者认为表观遗传学可能会从根本上改变我们对肿瘤基础生物学的理解。目前, 我们尚不能对表观机制是否会实质性

■同行评价

本文发现结直肠癌病例中,以癌灶为中心,存在一个梯度下降性的DNMT表达及ACF发生率的差异,此结果未见报道,值得深入研究。

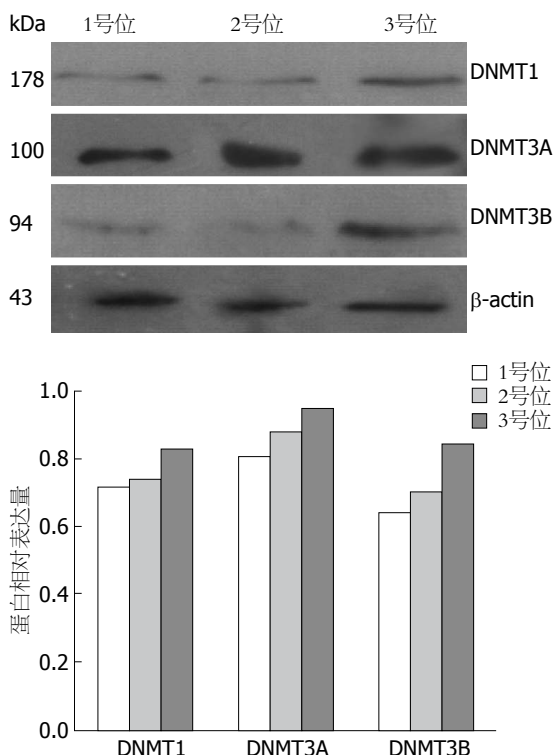


图5 Western blot检测DNMTs在3个部位组织中的表达。DNMT: DNA甲基转移酶。

改变我们对肿瘤基础生物学的理解下一个定论,但表观遗传机制却引发了肿瘤病理机制根本性的转变,至少目前,表观机制对肿瘤与微环境之间的调控使对肿瘤启动机制前移到更加早期的阶段。

表观遗传的改变使癌前细胞具有了选择生长优势^[29,30]。DNA甲基化是表观遗传学修饰的重要内容,是肿瘤发生的一条重要机制,也是肿瘤发生的早期分子事件^[31-33]。对癌旁组织的研究发现,癌基因低甲基化在癌症发生之前就已存在,几乎每种类型肿瘤的启动子甲基化都有其独特的模式,DNA的甲基化和去甲基化都由DNMT催化完成,DNA甲基化异常的一个潜在机制就是DNMT发生过调节。DNMT表达和活性升高是癌细胞的一个特征性的早期分子改变^[34]。

哺乳动物中具有甲基化活性的甲基转移酶有DNMT1、DNMT3A、DNMT3B^[35]。传统上认为DNMT1主要负责维持基因甲基化,而DNMT3A、DNMT3B负责从头甲基化,但最新研究认为三者同时具有重头甲基化和维持甲基化作用^[36]。

DNMTs能维持基因组完整性,基因组的完整性一旦被破坏将会引起染色质不稳定以及肿瘤的发生。其维持基因组稳定性的作用依赖于其在基因的表达调控中起着重要作。DNMTs的

异常表达暗示了基因表达调控的异常。在癌细胞中,DNMT基因的表达升高往往先于高甲基化变化,因此可认为DNMT表达量增高是癌细胞的一个特征性的早期分子变化^[37]。

我们的研究显示在癌变早期肠组织不仅发生了形态学的变化,出现了隐窝异常病灶,而且在离肠癌病灶不同距离组织中甲基转移酶的表达有差异,DNMTs在越靠近肠癌病灶的组织中表达越高。2、3号位组织中可见ACF,且3号位组织中ACF数量多于2号位组织。DNMTs在这两个部位组织中的表达均高于正常组织($P<0.05$),且在3号位组织中的表达高于2号位组织,但DNMT3A、DNMT3B在2号位组织和3号位组织中的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。就表达分布而言,DNMT1、DNMT3A的表达主要分布于隐窝间的间质中,且在2、3号位组织中隐窝间间质的表达量明显增多。DNMT3B在隐窝中和隐窝间的间质中均有表达,且在2、3号位组织的隐窝及隐窝间质中表达均增多。这说明组织结构、微环境的变化即出现ACF与DNMTs的高表达在大肠癌启动中有重要意义,可将二者结合作为大肠癌变的早期标志,运用于大肠癌的筛查、预防、诊断等方面,但二者之间的相互作用机制仍需探索,我们将把这作为下一步的方向继续深入研究。

4 参考文献

- 1 王先火,赵秀娟,邱立华,王华庆,王玺. 肿瘤发生的表观遗传学: 进展与临床意义. 北京大学学报(医学版) 2012; 44: 701-707
- 2 张丽丽,吴建新. DNA甲基化-肿瘤产生的一种表观遗传学机制. 遗传 2006; 28: 880-885
- 3 Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 141-196 [PMID: 9338076 DOI: 10.1016/S0065-230X(08)60702-2]
- 4 Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, Talmadge C, Sumegi J, Gonzales FA, Jones PA. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 2291-2298 [PMID: 10325416 DOI: 10.1093/nar/27.11.2291]
- 5 樊利芳,董卫国. 肠干细胞与结直肠癌干细胞研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 4075-4080
- 6 Bird RP, Good CK. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. *Toxicol Lett* 2000; 112-113: 395-402 [PMID: 10720758 DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00261-1]
- 7 Roncucci L, Stamp D, Medline A, Cullen JB, Bruce WR. Identification and quantification of aberrant crypt foci and microadenomas in the human colon. *Hum Pathol* 1991; 22: 287-294 [PMID: 1706308 DOI: 10.1016/0046-8177(91)90163-J]

- 8 Pretlow TP, Barrow BJ, Ashton WS, O'Riordan MA, Pretlow TG, Jurcisek JA, Stellato TA. Aberrant crypts: putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. *Cancer Res* 1991; 51: 1564-1567 [PMID: 1997197]
- 9 Wargovich MJ, Jimenez A, McKee K, Steele VE, Velasco M, Woods J, Price R, Gray K, Kelloff GJ. Efficacy of potential chemopreventive agents on rat colon aberrant crypt formation and progression. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1149-1155 [PMID: 10837003 DOI: 10.1093/carcin/21.6.1149]
- 10 Jen J, Powell SM, Papadopoulos N, Smith KJ, Hamilton SR, Vogelstein B, Kinzler KW. Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. *Cancer Res* 1994; 54: 5523-5526 [PMID: 7923189]
- 11 Siu IM, Pretlow TG, Amini SB, Pretlow TP. Identification of dysplasia in human colonic aberrant crypt foci. *Am J Pathol* 1997; 150: 1805-1813 [PMID: 9137103]
- 12 Pretlow TP, Pretlow TG. Mutant KRAS in aberrant crypt foci (ACF): initiation of colorectal cancer? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 83-96 [PMID: 16219426 DOI: 10.1016/j.bbcan.2005.06.002]
- 13 Cheng L, Lai MD. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2642-2649 [PMID: 14669304]
- 14 Nucci MR, Robinson CR, Longo P, Campbell P, Hamilton SR. Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. *Hum Pathol* 1997; 28: 1396-1407 [PMID: 9416697]
- 15 Shivapurkar N, Huang L, Ruggeri B, Swalsky PA, Bakker A, Finkelstein S, Frost A, Silverberg S. K-ras and p53 mutations in aberrant crypt foci and colonic tumors from colon cancer patients. *Cancer Lett* 1997; 115: 39-46 [PMID: 9097977 DOI: 10.1016/S0304-3835(97)04709-5]
- 16 Suehiro Y, Hinoda Y. Genetic and epigenetic changes in aberrant crypt foci and serrated polyps. *Cancer Sci* 2008; 99: 1071-1076 [PMID: 18384435 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00784.x]
- 17 Shpitz B, Bomstein Y, Mekori Y, Cohen R, Kaufman Z, Neufeld D, Galkin M, Bernheim J. Aberrant crypt foci in human colons: distribution and histomorphologic characteristics. *Hum Pathol* 1998; 29: 469-475 [PMID: 9596270 DOI: 10.1016/S0046-8177(98)90062-4]
- 18 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9]
- 19 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- 20 Pietras K, Ostman A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1324-1331 [PMID: 20211171 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.045]
- 21 Polyak K, Haviv I, Campbell IG. Co-evolution of tumor cells and their microenvironment. *Trends Genet* 2009; 25: 30-38 [PMID: 19054589 DOI: 10.1016/j.tig.2008.10.012]
- 22 Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z. Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell* 2010; 18: 884-901 [PMID: 20627072 DOI: 10.1016/j.devcel.2010.05.012]
- 23 Moran EM. Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2002; 21: 193-201 [PMID: 12086406 DOI: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.v21.i2.130]
- 24 Weber CE, Kuo PC. The tumor microenvironment. *Surg Oncol* 2012; 21: 172-177 [PMID: 21963199 DOI: 10.1016/j.suronc.2011.09.001]
- 25 Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986; 315: 1650-1659 [PMID: 3537791 DOI: 10.1056/NEJM198612253152606]
- 26 Allen M, Louise Jones J. Jekyll and Hyde: the role of the microenvironment on the progression of cancer. *J Pathol* 2011; 223: 162-176 [PMID: 21125673 DOI: 10.1002/path.2803]
- 27 Tamura S, Furuya Y, Tadokoro T, Higashidani Y, Yokoyama Y, Araki K, Onishi S. Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm. *J Gastroenterol* 2002; 37: 798-806 [PMID: 12424563 DOI: 10.1007/s005350200133]
- 28 Gupta AK, Schoen RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 59-65 [PMID: 19114775 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32831db286]
- 29 Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002; 196: 1-7 [PMID: 11748635 DOI: 10.1002/path.1024]
- 30 Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 415-428 [PMID: 12042769 DOI: 10.1038/nrg816]
- 31 Esteller M. Relevance of DNA methylation in the management of cancer. *Lancet Oncol* 2003; 4: 351-358 [PMID: 12788407 DOI: 10.1016/S1470-2045(03)01115-X]
- 32 Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-167 [PMID: 9988266 DOI: 10.1038/5947]
- 33 Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16: 168-174 [PMID: 10729832 DOI: 10.1016/S0168-9525(99)01971-X]
- 34 Rhee I, Bachman KE, Park BH, Jair KW, Yen RW, Schuebel KE, Cui H, Feinberg AP, Lengauer C, Kinzler KW, Baylin SB, Vogelstein B. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells. *Nature* 2002; 416: 552-556 [PMID: 11932749 DOI: 10.1038/416552a]
- 35 苏玉, 王溪, 朱卫国. DNA甲基转移酶的表达调控及主要生物学功能. *遗传* 2009; 11: 1087-1093
- 36 Fernandez AF, Huidobro C, Fraga MF. De novo DNA methyltransferases: oncogenes, tumor suppressors, or both? *Trends Genet* 2012; 28: 474-479 [PMID: 22704242 DOI: 10.1016/j.tig.2012.05.006]
- 37 陆嵘, 房静远, 朱红音, 陈紫晖, 程中华, 李恩灵. 重组DNA甲基化酶1表达质粒对结肠癌细胞相关基因表达的影响. *中华消化杂志* 2004; 24: 67-70

编辑 田滢 电编 鲁亚静



白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义

刘揆亮, 余瑞金, 吴 静, 林香春

■背景资料

肿瘤微环境中的炎性细胞因子在肿瘤发生、进展及转移等各个阶段均具有极其重要的作用,“促进肿瘤的炎症”已被列为肿瘤的十大特征之一。

刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038

刘揆亮, 主要从事结肠癌及其癌前病变的基础与临床研究。

首都医科大学附属北京世纪坛医院青年科学基金资助项目, No. 2011-q01

作者贡献分布: 本课题由刘揆亮与吴静设计; 研究过程由刘揆亮、余瑞金、吴静及林香春共同完成; 数据分析及论文写作由刘揆亮完成。

通讯作者: 吴静, 教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医院路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科。wujing36@163.com

收稿日期: 2013-06-11 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma

Kui-Liang Liu, Rui-Jin Yu, Jing Wu, Xiang-Chun Lin

Kui-Liang Liu, Rui-Jin Yu, Jing Wu, Xiang-Chun Lin, Beijing Shijitan Hospital, CMU, Beijing 100038, China
Supported by: the Youth Scientific Foundation of Beijing Shijitan Hospital, CMU, No. 2011-q01

Correspondence to: Jing Wu, Professor, Chief Physician, Beijing Shijitan Hospital, CMU, 10 Yangfangdian Tiediyuan Road, Haidian District, Beijing 100038, China. wujing36@163.com

Received: 2013-06-11 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the expression and role of interleukin-17 (IL-17) in colorectal cancer and adenoma.

METHODS: Tissue samples taken from patients with colorectal cancer or adenoma who were treated in our gastrointestinal endoscopy unit between 2009 and 2011 were used in this retrospective study. The expression of IL-17A in the above tissue samples was detected by immunohistochemistry. The relationship between IL-17A expression and clinicopathological characteristics and β -catenin localization was analyzed.

RESULTS: The positive rate of IL-17A expression was significantly higher in colorectal cancer, colorectal adenoma and ulcerative colitis than in normal colorectal tissue (54.2%, 45.8%, 50.0%

vs 0.0%, all $P < 0.01$). IL-17A expression was not associated with tumor location, degree of differentiation, Duke's stage, lymph node metastasis, MVD or Ki-67 expression in colorectal cancer (all $P > 0.05$). IL-17A expression was also not associated with histological type, MVD, concomitant colorectal cancer, location, size, color, number or shape of adenomas (all $P > 0.05$) in colorectal adenoma. The expression of IL-17A was higher in adenomas with high-grade dysplasia than in those with mild to moderate dysplasia, but the difference was not significant (29.62 ± 26.77 vs 16.98 ± 10.62 , $P > 0.05$). The expression of IL-17A was significantly higher in adenomas with nuclear expression of β -catenin than in those with cytoplasmic or membrane expression of β -catenin (29.11 ± 6.16 vs 16.95 ± 7.99 , 15.10 ± 11.46 , $P = 0.038$, 0.021).

CONCLUSION: IL-17A expression is elevated in colorectal cancer and adenomas and may mediate nuclear translocation of β -catenin.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-17A; Colorectal carcinoma; β -catenin

Liu KL, Yu RJ, Wu J, Lin XC. Significance of interleukin 17-A expression in colorectal cancer and adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2522-2529 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2522>

摘要

目的: 评价白介素(interleukin, IL)-17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及意义。

方法: 回顾性收集我院消化内镜室2009-2011年行肠镜检查后诊为结直肠癌与结直肠腺瘤患者的临床病理资料及组织标本, 通过免疫组织化学方法评价IL-17A的表达及其意义, 同时评价其与腺瘤组织 β -连接素(catenin)表达状态的相关性。

结果: 结直肠癌53例, IL-17A阳性细胞数为

■同行评议者

王 刚, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

21.6±14.4, 高表达率54.2%; 结直肠腺瘤48例, IL-17A阳性细胞数为20.42±17.16, 高表达率45.8%; 溃疡性结肠炎14例, IL-17A阳性细胞数为20.24±12.17, 高表达率50.0%; 正常对照12例, IL-17A阳性细胞数为6.85±4.66, 高表达率0.0%, 癌、腺瘤与溃疡性结肠炎中的表达均显著高于正常对照($P<0.01$), 但三者之间没有统计学差异($P>0.05$). 结直肠癌中, IL-17A的表达与结肠癌的部位、分化程度、Duke's分期、淋巴结转移、微血管密度(microvessel density, MVD)以及Ki-67表达均不相关($P>0.05$). 结直肠腺瘤中, IL-17A的表达与腺瘤组织学类型、MVD、部位、大小、颜色、形态、是否多发及患者是否伴发结直肠癌均不相关($P>0.05$); 重度异型增生的腺瘤组织IL-17A的表达明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤组织(29.62±26.77与16.98±10.62), 但差异没有统计学意义($P>0.05$). β -catenin胞核表达的结直肠腺瘤组织中IL-17A计数(29.11±6.16)明显高于胞浆(16.95±7.99)及胞膜(15.10±11.46)表达的结直肠腺瘤(P 值分别为0.038与0.021), 结直肠腺瘤中IL-17A的表达强度与 β -catenin的表达部位显著相关($P=0.002$).

结论: 结直肠腺瘤与结直肠癌间质中存在IL-17A高表达, IL-17A可能具有促进结直肠腺瘤组织中 β -catenin胞核转位的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 白介素17A; 结直肠癌; β -连接素

核心提示: 本文通过免疫组织化学方法对白介素(interleukin, IL)-17A在结直肠腺瘤-腺癌间质中的表达情况及其与各项临床病理指标以及血管生成、细胞增殖、 β -catenin表达状态之间的关系进行了评价. 证实了IL-17A在结直肠癌及结直肠腺瘤中均存在高表达, 同时发现腺瘤中IL-17A的表达可能与异型增生程度具有一定关系, 且可能影响腺瘤癌变过程中的 β -catenin通路, 提示有必要对于IL-17A在结肠腺瘤癌变过程中的作用进行进一步的研究.

刘揆亮, 余瑞金, 吴静, 林香春. 白介素17A在结直肠癌及腺瘤组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2522-2529 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2522>

0 引言

肿瘤微环境是上皮性恶性肿瘤的主要特征之一,

胃肠道肿瘤的微环境由间质细胞、免疫细胞、肠神经系统以及基质组成, 在肿瘤发生、进展及转移过程中起到重要作用^[1]. 肿瘤间质中的大量炎性细胞因子构成的炎性微环境对于肿瘤的发生发展具有极其重要的促进作用, “促进肿瘤的炎症”已被列为肿瘤的十大特征之一^[2]. 白介素(interleukin, IL)-17A是Th17细胞产生的一种细胞因子, 参与了多种自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病的发展^[3], 近年的研究发现其在肿瘤的发病中也可能发挥重要作用, 但其确切作用机制尚未完全阐明. 本研究收集本单位近年来的结直肠癌及结直肠腺瘤的病例, 通过免疫组织化学方法, 对IL-17A在结直肠癌及腺瘤等组织中的表达及其意义进行了初步探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性收集我院消化内镜室于2009-2011年行肠镜检查后发现结肠腺瘤及结肠癌患者行活检或手术及内镜下切除的病理组织石蜡标本, 常规切片备用. 选取肠镜检查提示小增生性息肉的患者的增生性息肉组织作为正常对照, 另选取一部分溃疡性结肠炎患者的活检组织进行比较.

1.2 方法

1.2.1 实验: 免疫组织化学染色采用Envision二步法, IL-17A兔抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司(编号sc-7927, 浓度1:100); CD34鼠抗人单克隆抗体购自丹麦Dako公司(编号M7165, 浓度1:100); β -连接素(catenin)鼠抗人单克隆抗体购自中杉金桥公司(编号ZM-0442, 浓度1:200); 二抗(工作液)购自丹麦Dako公司; 阴性对照以PBS代替一抗进行. 染色方法如下: 切片常规脱蜡置水, pH 6.0枸橼酸缓冲液抗原修复, 3%过氧化氢蒸馏水溶液室温避光封闭, 5%羊血清室温封闭, 滴加一抗和二抗, DAB显色后苏木素复染15 s.

1.2.2 免疫组织化学结果观察及判断标准: IL-17A以黏膜固有层或肿瘤间质内可见棕黄色或褐色颗粒的细胞为阳性细胞, 在400×视野下, 对每个标本选取5个阳性细胞集中的视野(热点区域)摄片^[4,5], 采用Image Pro Plus 6.0软件计数视野中的阳性细胞数, 取其平均值作为该标本的IL-17阳性细胞数, 以 ≥ 20 个(因数据统计显示本课题中IL-17阳性细胞数均值接近20)为高表达; β -catenin的染色以细胞膜、细胞浆或细胞核

■ 研发前沿

炎性细胞因子白介素17A(interleukin 17A, IL-17A)在各种慢性炎症性疾病中具有关键作用, 大量研究显示其在多种肿瘤中均表达增高, 并可能发挥重要的促瘤作用, 但确切作用仍不完全清楚. 其作用有可能与所处微环境和肿瘤不同阶段有关. 对于IL-17A在结直肠腺瘤-腺癌序列中的作用研究较少.

■相关报道

Cui等发现结直肠腺瘤-腺癌序列中IL-17A表达逐渐增强,其表达强度也与腺瘤异型增生程度相关,提示IL-17A可能在结直肠腺瘤癌变过程中有重要作用。

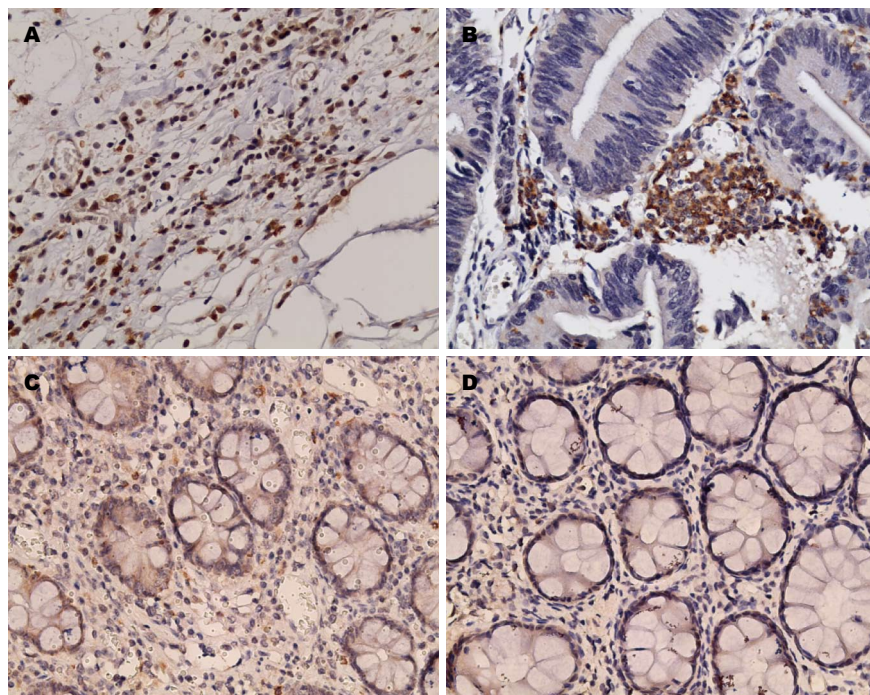


图 1 IL-17A在不同组织中的表达情况($\times 400$). A: 结直肠癌; B: 结直肠腺瘤; C: 溃疡性结肠炎; D: 正常对照. IL-17A: 白介素17A.

表 1 IL-17A在不同组织中的表达情况

表达情况	癌	腺瘤	溃疡性结肠炎	正常对照组
数量	53	48	14	12
IL-17A阳性细胞计数	21.6 ± 14.4^b	20.42 ± 17.16^b	20.24 ± 12.17^b	6.85 ± 4.66
IL-17A高表达率	54.2%	45.8%	50.0%	0.0%

^b $P < 0.01$ vs 正常对照组. IL-17A: 白介素17A.

见棕黄色或褐色颗粒为染色阳性,胞核着色细胞 $>5\%$ 时为胞核表达,胞浆着色细胞 $>10\%$ 时为胞浆表达;对CD34染色后呈现单个内皮或内皮细胞群形成的管状或窄隙状结构均视为微血管,400 \times 视野下,对每个标本选取3个微血管集中的视野摄片计算微血管密度(microvessel density, MVD).

统计学处理 采用SPSS15.0软件进行统计学分析.计数资料以率表示,计量资料以mean \pm SD表示,计数资料的比较采用 χ^2 检验,计量资料的比较采用独立样本 t 检验或方差分析,等级资料的相关性比较采用Spearman相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

IL-17A的表达情况:结直肠癌间质中可见散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单个核细胞,部分切片中可见肿瘤细胞着色;结直肠腺瘤间质中可见到散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单

个核细胞,部分切片中有少许上皮细胞着色;溃疡性结肠炎黏膜固有层中可见到散在或聚集的IL-17A染色为阳性的单个核细胞;正常对照组中黏膜固有层可见少许IL-17A染色阳性的单个核细胞(图1).

不同组织中IL-17A表达的比较:结直肠癌53例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 21.6 ± 14.4 ;其中高表达者28例,高表达率54.2%;结直肠腺瘤48例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.42 ± 17.16 ,高表达者22例,高表达率45.3%,溃疡性结肠炎14例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.24 ± 12.17 ,高表达率50.0%.正常对照12例,IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 6.85 ± 4.66 ,无高表达者.结直肠癌、结直肠腺瘤及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)中IL-17A的表达均明显高于正常对照($P < 0.01$),但三组之间相比均无明显差异($P > 0.05$)(图1,表1).

IL-17A在结直肠癌中的表达情况及其临床

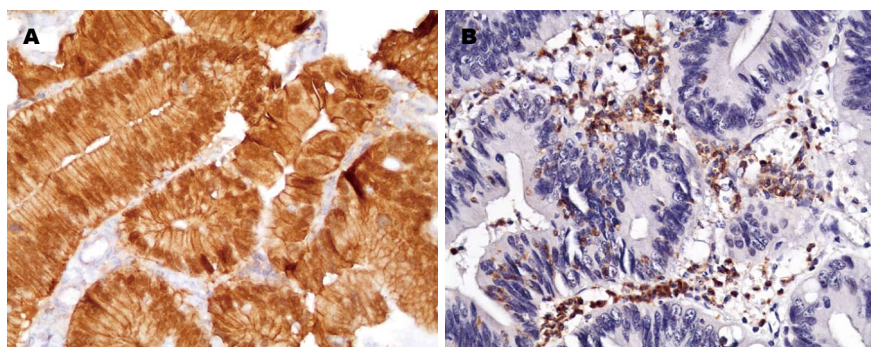


图2 β-catenin胞核表达的腺瘤间质中IL-17A呈高表达($\times 400$)。A: β-catenin呈胞核表达的腺瘤组织; B: 该腺瘤间质中IL-17A呈高表达。

■创新盘点

本文重点关注肿瘤间质中IL-17A在结直肠腺瘤及结直肠癌中的表达情况,并关注其与各项临床病理指标以及血管生成、细胞增殖及β-catenin表达状态之间的关系,有助于初步揭示IL-17A在腺瘤癌变过程中的可能作用。

表2 IL-17A在结肠癌中的表达情况及其临床病理意义

项目	数量	IL-17A计数	P值
部位	53	21.6 ± 14.4	>0.05
右半结肠	13	20.89 ± 11.08	
左半结肠及直肠	40	21.84 ± 15.46	
临床分期			>0.05
Duke's B	6	11.87 ± 10.75	
Duke's C	34	23.07 ± 14.34	
Duke's D	13	22.26 ± 15.27	
分化程度			>0.05
低分化	14	24.04 ± 14.32	
中-高分化	39	20.73 ± 14.53	
淋巴结转移			>0.05
有	17	22.56 ± 15.47	
无	36	21.15 ± 14.09	
Ki-67			>0.05
阳性	43	23.17 ± 14.63	
阴性	10	14.88 ± 11.85	

IL-17A: 白介素17A。

病理意义: 结直肠癌53例, IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 21.6 ± 14.4 ; MVD为 34.18 ± 7.35 ; Ki-67阳性($>50\%$)43例。IL-17A的表达与结肠癌的部位、分化程度、Dukes分期以及Ki-67的表达均不相关(表2), IL-17A的表达强度与MVD不相关($P>0.05$)。

IL-17A在结直肠腺瘤中的表达情况及其临床病理意义: 结直肠腺瘤48例, IL-17A阳性表达的单个核细胞计数为 20.42 ± 17.16 , MVD为 21.92 ± 5.36 ; 其中管状腺瘤15例, IL-17A阳性细胞计数为 15.64 ± 11.00 , 高表达率40.0%; 绒毛管状腺瘤30例, 单个核细胞计数为 23.13 ± 19.75 , 高表达率50.0%; 锯齿状腺瘤3例, 单个核细胞计数为 17.20 ± 10.76 , 高表达者1例。管状腺瘤与绒毛管状腺瘤中, 轻度异型增生9例, IL-17A阳性细胞计数 11.87 ± 3.96 , 高表达率33.3%, 中度异

型增生23例, IL-17阳性细胞计数 18.98 ± 11.76 , 高表达率56.5%; 重度异型增生13例, IL-17A阳性细胞计数 29.62 ± 26.77 , 高表达率61.5%。IL-17A的表达与腺瘤组织学类型、MVD、部位、大小、颜色、形态、是否多发以及患者是否伴发结直肠癌均不相关($P>0.05$), 重度异型增生的腺瘤组织中IL-17A的表达明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤组织, 但差异没有统计学意义。β-catenin胞核表达的结直肠腺瘤组织中IL-17A计数(29.11 ± 6.16)明显高于胞浆(16.95 ± 7.99)及胞膜(15.10 ± 11.46)表达的结直肠腺瘤(P 值分别为0.038与0.021, 图2, 表3), 相关性分析显示IL-17A的表达强度与β-catenin的表达部位显著相关($P=0.002$, 表4)。

3 讨论

IL-17A是由Th17细胞产生的一种细胞因子, 主要通过与其上皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等多种细胞表面的IL-17受体结合而发挥作用, 可诱导多种促炎细胞因子及趋化因子的释放, 参与多种慢性炎症的发生与维持过程^[3]。研究表明卵巢癌^[6]、胃癌^[7]、肺癌^[8]、乳腺癌^[9]、前列腺癌^[10]、肝癌^[11]等多种肿瘤组织中IL-17A表达也均有增加, 但其在肿瘤发生发展过程中的确切作用机制仍不十分清楚^[12,13]。有研究发现IL-17A可调节IL-6及STAT3通路^[14]以及基质金属蛋白酶7(matrix metalloproteinase 7, MMP7)^[15], 还可通过血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)促进肿瘤新生血管的形成^[5,16], 可通过影响肿瘤微环境而促进肿瘤生长, 可能主要起到促肿瘤作用; 但也有研究提出IL-17可能具有抗肿瘤免疫作用^[17], 还有研究将肿瘤细胞注入IL-17^{-/-}小鼠体内后肿瘤生长较野生型小鼠加快且肿瘤转移增加^[18]。有人提出IL-17A在不同微环境背景及肿瘤不同生长阶段时可能具有促肿瘤生长或抑制肿瘤生长的不同作用^[12,13]。

■应用要点

本文发现炎症细胞因子IL-17A在结直肠腺瘤中的表达可能与促进 β -catenin的胞核转位表达有关,对于IL-17A在腺瘤癌变过程中Wnt/ β -catenin通路中的作用有必要进行进一步研究.

表 3 IL-17A在结肠腺瘤中的表达情况及其临床病理意义

项目	数量	IL-17A计数	高表达率(%)	P值
部位	48	20.42 ± 17.16	45.8	>0.05
右半结肠	12	23.37 ± 28.05		
左半结肠及直肠	36	19.43 ± 12.00		
颜色				>0.05
色红	18	21.9 ± 12.6		
色同周围	30	19.53 ± 19.54		
大小(cm)				>0.05
≥1	14	24.04 ± 14.32		
<1	39	20.73 ± 14.53		
形态				>0.05
分叶	26	21.28 ± 20.57		
不分叶	22	19.4 ± 12.38		
是否多发				>0.05
多发	27	22.72 ± 19.89		
单发	21	17.46 ± 12.67		
患者是否伴发结直肠癌				>0.05
是	8	22.82 ± 17.47		
否	40	19.94 ± 17.28		
组织学类型				>0.05
管状	15	15.64 ± 11.00	40.0	
绒毛管状	30	23.13 ± 19.75	50.0	
锯齿状	3	17.20 ± 10.76	33.3	
异型增生程度 ¹				>0.05
轻度	9	11.87 ± 3.96	33.3	
中度	23	18.98 ± 11.76	56.5	
重度	13	29.65 ± 26.73	61.5	
β -catenin表达				<0.05
胞膜	13	15.10 ± 11.46 ^a	23.1	
胞浆	16	16.95 ± 7.99 ^a	37.5	
胞核	16	29.11 ± 6.16	75.0	

¹对不同异型增生程度及 β -catenin表达进行比较时剔除了3例锯齿状腺瘤。 ^a $P < 0.05$ vs 胞核。

IL-17A: 白介素17A。

动物实验及临床研究均证实IL-17在炎症性肠病中表达增高^[19,20],而炎症性肠病患者合并结肠炎相关性结肠癌明显增多^[21],另外,IL-17A敲除的小鼠中结肠炎相关结肠癌中明显减轻,这些均提示IL-17可能参与炎症-异型增生-结肠癌途径^[22]。而近年来的研究提示IL-17A在散发性结直肠癌的结肠腺瘤-腺癌癌变途径中可能同样具有重要的作用^[4,23],动物实验表明,在肠内多发新生物(multiple intestinal neoplasia, Min)小鼠(体内 Apc 基因为杂合子)中进一步敲除IL-17A后结肠内肿瘤的形成明显减少^[24];而采用肠中毒性脆弱拟杆菌(*enterotoxigenic bacteroides fragilis*, ETBF)诱导IL-17A生成后Min小鼠的结肠肿瘤明

显增加^[25]。临床研究也证实IL-17A在结肠癌患者的血清与结肠癌组织中均存在高表达^[4,5,26,27]。这些结果均提示IL-17A在结直肠癌的发生和发展过程中起到了重要作用,但其确切机制,尤其是在散发性结直肠癌中的作用仍不清楚^[23]。

在本研究中,我们首先证实了IL-17A在散发性结直肠癌组织中存在高表达。温玉婷等报道IL-17A在结肠癌组织的肿瘤细胞及固有层的单个核细胞内表达均有明显升高^[28],但一般认为IL-17A主要表达于结肠黏膜的固有层中,在上皮组织内也可有部分上皮内淋巴细胞散在表达^[4],由于IL-17A在肿瘤间质中的表达可能更能体现其在肿瘤微环境中的作用,我们在本研究中

表 4 IL-17A表达强度与 β -catenin表达位置的相关性

IL-17A表达强度	β -catenin表达位置		
	胞膜表达	胞浆表达	胞核表达
总数	13	16	16
高表达	3	6	9
一般表达	10	10	7

Spearman相关分析显示IL-17A表达强度与 β -catenin表达位置相关($P = 0.002$)。IL-17A: 白介素17A。

选取肿瘤间质内IL-17A阳性的单个核细胞的表达计数作为IL-17A表达强度的评判标准。此前有研究提示结肠癌组织中IL-17A的表达水平与结肠癌的预后相关^[5], 我们对IL-17A表达的病理意义也进行了评价, 但没有发现IL-17A与各临床病理指标的相关性, 这一点与Cui等^[4]的研究结果类似。一些研究提出IL-17A具有促进血管生成以及肿瘤细胞生长的作用^[5,16], 但我们的研究未能证实IL-17A表达与MVD及Ki-67之间的相关性, 这一结果可能与我们研究的样本量相对不足有关。其次, 本研究证实了结直肠腺瘤组织中IL-17A的高表达, 这一结果与Cui等相符^[4]。Cui等还发现重度异型增生的腺瘤组织中IL-17A表达水平明显高于轻度和中度异型增生的腺瘤^[4], 而我们的研究中, 重度异型增生的腺瘤中IL-17A的表达也明显高于轻中度异型增生的腺瘤, 但差异没有统计学意义, 这可能与Cui等所用的PCR方法较我们所使用的免疫组织化学方法更为精确有关。IL-17A在结肠腺瘤癌变中所起作用尚不清楚^[23], 此前有研究发现Foxp3和IL-17阳性的T细胞具有诱导结肠癌肿瘤干细胞的作用^[29]。我们也对IL-17A在腺瘤癌变中可能的作用进行了初步探讨, 评价了IL-17A的表达强度与腺瘤中MVD及 β -catenin表达状态之间的相关性。与结直肠癌组织中的结果相同, 我们未能证实IL-17A与MVD的相关性。Wnt/ β -catenin是参与结肠腺瘤癌变的关键通路之一, β -catenin是细胞间粘着连接的主要结构成分, 正常情况下主要表达于胞膜, Wnt/ β -catenin通路的突变可导致 β -catenin出现胞浆及胞核内的异位表达, 核内的 β -catenin表达水平是Wnt信号通路激活或结直肠癌启动细胞的重要标志^[30]。 β -catenin的异位表达是腺瘤癌变途径中的关键事件之一^[21]。最近的研究表明, β -catenin的核内表达可能较胞浆表达更具意义。Brand等^[31]发现结肠腺瘤中

β -catenin的核内表达与腺瘤切除后的复发相关; 而Chen等^[30]的一项荟萃分析也发现结肠癌患者肿瘤组织内 β -catenin的核内表达与患者预后相关, 而胞浆表达则不相关。我们在本研究中发现, β -catenin核内表达的腺瘤组织中IL-17A阳性细胞的数量明显高于胞浆和胞膜表达的组织, 相关性分析显示IL-17A的表达强度与 β -catenin的核内表达显著相关($P = 0.002$)。研究表明, 抗炎药物5-氨基水杨酸可通过抑炎作用抑制慢性溃疡性结肠炎患者肠上皮中的 β -catenin激活^[32], 分泌IL-17A的T辅助细胞17(Th17)上游的模式识别受体Toll样受体-4也可通过激活小鼠肠上皮内的 β -catenin而导致肠道肿瘤^[33], 还有研究显示IL-1 β 可显著增加大鼠正常肠道来源的IEC-18细胞系中 β -catenin的表达水平^[34], 这些结果均提示炎症及炎症细胞因子可能具有影响 β -catenin表达的作用, 因此, 有理由推测IL-17A可能起到了促进 β -catenin胞核转位的作用。

总之, 本研究通过免疫组织化学方法证实了IL-17A在结直肠癌及腺瘤中表达的增加, 并发现IL-17A有可能影响 β -catenin的胞核转位, 这一结果提示IL-17A可能在结肠腺瘤癌变的过程中发挥重要作用, 有必要对IL-17A在结肠腺瘤癌变过程中的作用进行更多的研究。

4 参考文献

- Quante M, Varga J, Wang TC, Gretchen FR. The gastrointestinal tumor microenvironment. *Gastroenterology* 2013; 145: 63-78 [PMID: 23583733 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.03.052]
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- Liu JZ, Pezeshki M, Raffatellu M. Th17 cytokines and host-pathogen interactions at the mucosa: dichotomies of help and harm. *Cytokine* 2009; 48: 156-160 [PMID: 19665391 DOI: 10.1016/j.cyt.2009.07.005]
- Cui G, Yuan A, Goll R, Florholmen J. IL-17A in the tumor microenvironment of the human colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 1304-1312 [PMID: 22989213 DOI: 10.3109/00365521.2012.725089]
- Liu J, Duan Y, Cheng X, Chen X, Xie W, Long H, Lin Z, Zhu B. IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 407: 348-354 [PMID: 21396350 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.03.021]
- Chen JG, Xia JC, Liang XT, Pan K, Wang W, Lv L, Zhao JJ, Wang QJ, Li YQ, Chen SP, He J, Huang LX, Ke ML, Chen YB, Ma HQ, Zeng ZW, Zhou ZW, Chang AE, Li Q. Intratumoral expression of IL-17 and its prognostic role in gastric adenocarci-

■同行评价
本文具有一定指导意义。

- noma patients. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 53-60 [PMID: 21234303]
- 7 Kato T, Furumoto H, Ogura T, Onishi Y, Irahara M, Yamano S, Kamada M, Aono T. Expression of IL-17 mRNA in ovarian cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 735-738 [PMID: 11401524 DOI: 10.1006/bbrc.2001.4618]
 - 8 Li Y, Cao ZY, Sun B, Wang GY, Fu Z, Liu YM, Kong QF, Wang JH, Zhang Y, Xu XY, Li HL. Effects of IL-17A on the occurrence of lung adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 610-616 [PMID: 21785272 DOI: 10.4161/cbt.12.7.16302]
 - 9 Chen WC, Lai YH, Chen HY, Guo HR, Su IJ, Chen HH. Interleukin-17-producing cell infiltration in the breast cancer tumour microenvironment is a poor prognostic factor. *Histopathology* 2013; 63: 225-233 [PMID: 23738752 DOI: 10.1111/his.12156]
 - 10 Sfanos KS, Bruno TC, Maris CH, Xu L, Thoburn CJ, DeMarzo AM, Meeker AK, Isaacs WB, Drake CG. Phenotypic analysis of prostate-infiltrating lymphocytes reveals TH17 and Treg skewing. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3254-3261 [PMID: 18519750 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5164]
 - 11 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989 [PMID: 19329213 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.033]
 - 12 Murugaiyan G, Saha B. Protumor vs antitumor functions of IL-17. *J Immunol* 2009; 183: 4169-4175 [PMID: 19767566 DOI: 10.4049/jimmunol]
 - 13 Hemdan NY. Anti-cancer versus cancer-promoting effects of the interleukin-17-producing T helper cells. *Immunol Lett* 2013; 149: 123-133 [PMID: 23159638 DOI: 10.1016/j.imlet.2012.11.002]
 - 14 Su X, Ye J, Hsueh EC, Zhang Y, Hoft DF, Peng G. Tumor microenvironments direct the recruitment and expansion of human Th17 cells. *J Immunol* 2010; 184: 1630-1641 [PMID: 20026736 DOI: 10.4049/jimmunol.0902813]
 - 15 Zhang Q, Liu S, Ge D, Zhang Q, Xue Y, Xiong Z, Abdel-Mageed AB, Myers L, Hill SM, Rowan BG, Sartor O, Melamed J, Chen Z, You Z. Interleukin-17 promotes formation and growth of prostate adenocarcinoma in mouse models. *Cancer Res* 2012; 72: 2589-2599 [PMID: 22461511 DOI: 10.1182/blood.V99.6.2114]
 - 16 Numasaki M, Watanabe M, Suzuki T, Takahashi H, Nakamura A, McAllister F, Hishinuma T, Goto J, Lotze MT, Kolls JK, Sasaki H. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis. *J Immunol* 2005; 175: 6177-6189 [PMID: 16237115]
 - 17 Benchetrit F, Ciree A, Vives V, Warnier G, Gey A, Sautès-Fridman C, Fossiez F, Haicheur N, Fridman WH, Tartour E. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood* 2002; 99: 2114-2121 [PMID: 11877287 DOI: 10.1182/blood.V99.6.2114]
 - 18 Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood* 2009; 114: 357-359 [PMID: 19289853 DOI: 10.1182/blood-2008-09-177360]
 - 19 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762 DOI: 10.1136/gut.52.1.65]
 - 20 刘揆亮, 吕愈敏, 顾芳. 白介素17在三硝基苯磺酸诱导结肠炎小鼠结肠内的表达及益生菌的作用. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 363-366, 370
 - 21 Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2101-2114. e5 [PMID: 20420949 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.058]
 - 22 Hyun YS, Han DS, Lee AR, Eun CS, Youn J, Kim HY. Role of IL-17A in the development of colitis-associated cancer. *Carcinogenesis* 2012; 33: 931-936 [PMID: 22354874 DOI: 10.1093/carcin/bgs106]
 - 23 Shi Y, Lin H, Cui J, Qi H, Florholmen J, Liu Z, Cui G. The Role of Interleukin-17A in Colorectal Tumorigenesis. *Cancer Biother Radiopharm* 2013; 28: 429-432 [PMID: 23701420]
 - 24 Chae WJ, Gibson TF, Zelterman D, Hao L, Henegariu O, Bothwell AL. Ablation of IL-17A abrogates progression of spontaneous intestinal tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5540-5544 [PMID: 20212110 DOI: 10.1073/pnas.0912675107]
 - 25 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
 - 26 Radosavljevic G, Ljubic B, Jovanovic I, Srzentic Z, Pavlovic S, Zdravkovic N, Milovanovic M, Bankovic D, Knezevic M, Acimovic LJ, Arsenijevic N. Interleukin-17 may be a valuable serum tumor marker in patients with colorectal carcinoma. *Neoplasma* 2010; 57: 135-144 [PMID: 20099977 DOI: 10.4149/neo_2010_02_135]
 - 27 Wägsäter D, Löfgren S, Hugander A, Dimberg J. Expression of interleukin-17 in human colorectal cancer. *Anticancer Res* 2006; 26: 4213-4216 [PMID: 17201135]
 - 28 温玉婷, 刘伟, 杨爱军, 王晨昱, 李敏, 王金穗. IL-17和STAT3在结直肠癌组织中的表达及临床意义. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1812-1815
 - 29 Yang S, Wang B, Guan C, Wu B, Cai C, Wang M, Zhang B, Liu T, Yang P. Foxp3+IL-17+ T cells promote development of cancer-initiating cells in colorectal cancer. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 85-91 [PMID: 20952660 DOI: 10.1189/jlb.0910506]
 - 30 Chen Z, He X, Jia M, Liu Y, Qu D, Wu P, Ni C, Zhang Z, Ye J, Xu J, Huang J. β -catenin overexpression in the nucleus predicts progress disease and unfavourable survival in colorectal cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e63854 [PMID: 23717499 DOI: 10.1371/journal.pone.0063854]
 - 31 Brand L, Munding J, Pox CP, Ziebarth W, Reiser M, Hüppe D, Schmiegeler W, Reinacher-Schick A, Tannapfel A. β -catenin, Cox-2 and p53 immunostaining in colorectal adenomas to predict recurrence after endoscopic polypectomy. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1091-1098 [PMID: 23516071]
 - 32 Munding J, Ziebarth W, Pox CP, Ladigan S, Reiser M, Hüppe D, Brand L, Schmiegeler W, Tannapfel A, Reinacher-Schick AC. The influence of 5-aminosalicylic acid on the progression of colorectal adenomas via the β -catenin signaling pathway. *Carcinogenesis* 2012; 33: 637-643 [PMID: 22198215 DOI: 10.1093/carcin/bgr306]

- 33 Santaolalla R, Sussman DA, Ruiz JR, Davies JM, Pastorini C, España CL, Sotolongo J, Burlingame O, Bejarano PA, Philip S, Ahmed MM, Ko J, Dirisina R, Barrett TA, Shang L, Lira SA, Fukata M, Abreu MT. TLR4 activates the β -catenin pathway to cause intestinal neoplasia. *PLoS One* 2013; 8: e63298 [PMID: 23691015 DOI: 10.1371/journal.pone.0063298]
- 34 Wang L, Liu Z, Li Y, Pappan L, Galliher-Beckley A, Shi J. Pro-inflammatory cytokine interleukin-1 β promotes the development of intestinal stem cells. *Inflamm Res* 2012; 61: 1085-1092 [PMID: 22706317 DOI: 10.1007/s00011-012-0501-3]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)。

功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤

■背景资料

近端胃适应性受损被认为是功能性消化不良的重要病理生理机制之一, 他的评价方法已受到广泛的关注. 金标准恒压器技术因其有侵入性不适宜临床应用, 因此, 急需发展一些简便无创且能准确评价近端胃适应性的方法, 便于功能性胃肠病的诊治.

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤, 北京中日友好医院消化内科 北京市 100029

徐茜茜, 在读博士, 主要从事功能性胃肠病学的相关研究.

作者贡献分布: 徐茜茜完成论文写作; 张艳丽指导; 姚树坤审核.
通讯作者: 姚树坤, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花东街2号, 中日友好医院消化内科. yaoshukun6@yahoo.com.cn
电话: 010-64222978

收稿日期: 2013-05-12 修回日期: 2013-06-10

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-09-08

Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia

Qian-Qian Xu, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao

Qian-Qian Xu, Yan-Li Zhang, Shu-Kun Yao, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Correspondence to: Shu-Kun Yao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, 2 Yinghua East Street, Chaoyang District, Beijing 100029, China. yaoshukun6@yahoo.com.cn

Received: 2013-05-12 Revised: 2013-06-10

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-09-08

Abstract

Since gastric accommodation is an important parameter for investigating the pathophysiology of functional dyspepsia, the measurement of gastric accommodation has aroused widespread interests. Gastric barostat remains the gold standard, but it needs intubation and is invasive. In recent years, emerging modalities including single photon emission computed tomography (SPECT), three-dimensional ultrasound and magnetic resonance imaging have been developed to measure gastric volumes accurately and non-invasively; however, these technologies are sophisticated and expensive, which limits their clinical application. The satiety drinking test is simple and non-invasive and is often used in clinical and research studies, but the differences in the types of meals and the drinking speed among different studies often cause differences in the evaluation of gastric accommodation. The

aim of this review is to summarize the advantages and disadvantages of various measurements of gastric accommodation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric accommodation; Gastric barostat; Ultrasound; Single photon emission computed tomography; Magnetic resonance imaging; Liquid nutrient load test

Xu QQ, Zhang YL, Yao SK. Progress in measurements of proximal gastric accommodation in patients with functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2530-2536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2530.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2530>

摘要

近端胃适应性受损作为功能性消化不良的重要病理生理机制之一, 他的评价方法已受到广泛的关注. 胃适应性的金标准方法是恒压器技术, 但该方法需要插管, 为侵入性检查. 近几年, 一些新方法如单光子发射计算机断层显像技术、三维超声及核磁共振成像等能够比较准确评估胃的适应性, 但其操作技术复杂且价格昂贵, 限制了临床应用. 目前临床研究应用较多的饱感负荷试验, 是一种简单无创的方法, 该方法因试餐种类、饮入速度等差异, 对胃适应性的评价有所不同. 本文总结和分析了各种胃适应性检测方法的优缺点, 便于临床和研究中更好地评价功能性消化不良患者的近端胃适应性功能.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃适应性; 恒压器; 超声检查; 单光子发射计算机断层成像术; 核磁共振成像; 液体营养试餐试验

核心提示: 近端胃适应性受损是功能性消化不良重要的病理生理机制之一, 他的评价方法对于更好地诊治疾病有重要意义. 本文全面地总结和分析了各种胃适应性检测方法的优缺点, 尤其是对

■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

液体试餐试验从试餐种类、饮入速度、饮入方式等各个方面进行了探讨分析, 对临床应用和研究有重要的指导意义。

徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤. 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2530-2536 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2530.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2530>

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的上消化道功能性疾病, 是指存在一种或多种起源于胃十二指肠区域的消化不良症状, 并且缺乏能解释这些症状的任何器质性、系统性或代谢性疾病^[1]. FD的发病机制可能涉及: 胃排空延迟、内脏高敏感性、胃容受性受损、幽门螺杆菌感染、十二指肠空肠运动异常、中枢神经系统功能紊乱、精神心理因素等多个方面^[2]. 近年来, 越来越多的研究发现近端胃适应性受损是FD重要的病理生理机制, 并与症状有一定的相关性。

近端胃作为一个功能性概念, 解剖学上包括胃底和胃体近端的1/3, 起适应性调节的功能. 目前临床和研究中评价近端胃适应性功能的检测方法很多, 本文目的就是全面总结分析各种检测技术的优缺点, 为其更好地应用在FD患者近端胃适应性功能评价的临床研究中。

1 近端胃适应性功能与FD

胃的适应性反射是餐后由迷走神经介导的, 摄入食物导致胃张力的减低和顺应性的增加, 在不增加胃内压的基础上增加胃容积, 进而为食物在近端胃的储存提供足够的容量^[3]. 近端胃的适应性调节包括容受性舒张和适应性舒张. 前者指吞咽动作引起近端胃张力降低, 这种反射不要求食物进入胃, 干咽和机械刺激咽部、食管均可引起, 是由咽部和食管的机械感受器触发^[4]; 而适应性舒张为迷走-迷走反射, 指近端胃对于胃扩张的反射性舒张(胃窦-胃底反射), 由胃壁的机械受体介导, 能够调节胃壁对特殊营养物质产生的张力^[5].

近端胃胃适应性受损与上消化道的多种症状有关, 包括早饱、腹胀、上腹痛、体质量下降、恶心等; 其也与多种疾病相关, 如: 功能性消化不良^[6,7]、糖尿病胃轻瘫^[8]、反刍综合征^[9]、胃底折叠术后^[10]、迷走神经切断术及部分胃切除术后^[11]、慢传输型便秘和肠易激综合征等. 有研

究显示近端胃适应性受损可能存在于40%的FD患者, 并且与FD的多种症状有一定相关性, 如早饱、腹胀、上腹痛、恶心和体质量下降等^[12].

2 近端胃适应性功能检测方法的评价及应用

目前关于胃适应性的检测方法主要有两大类: 侵入性方法以电子恒压器技术为金标准; 非侵入性方法包括影像学方法(超声、核磁共振、单光子发射计算机断层显像技术)和液体营养餐负荷实验等。

2.1 电子恒压器检测技术(electrical barostat) 电子恒压器通过测定恒压状态下气囊内气体量, 反映近端胃容积, 从而评估近端胃敏感性与适应性. 该技术是目前唯一可同时测定胃内压与容量的方法, 被认为是反映近端胃功能、检验其他检测方法有效性的“金标准”. Tack等^[12]应用恒压器评价胃敏感性和容受性的研究发现: 与健康对照相比, FD患者胃容受功能下降, 其中40%的FD患者存在胃适应性受损, 32%的FD患者存在胃高敏感性, 并且胃适应性受损与早饱症状密切相关。

为了证明这个方法是可靠的, Tack还分别在健康人和消化不良的患者中验证了恒压器检测的可重复性^[13]. 结果显示恒压器测定的胃容受性在消化不良患者和健康人中有很好的重复性($R = 0.71$ 和 0.74).

恒压器也被广泛应用于药理学试验的研究中, 如有研究证明5-HT₁受体激动剂舒马曲坦(sumatriptan)能够增加FD患者试餐诱发的胃松弛, 改善早饱症状; 而NOS抑制剂L-NMMA(L-单甲基精氨酸)则损害胃的适应性舒张功能^[14].

恒压器技术的不足之处有: (1)检查需要插入带气囊的导管, 受试者不易接受, 且易产生急性应激反应, 影响内脏敏感性评价^[15,16]; (2)恒压器反映的是空腹状态时的胃部感觉, 而多数FD患者的消化不良症状与进食相关^[17]; 恒压器检查不够符合生理进食情况, 如该检查为机械扩张刺激, 而进食过程除了消化系的机械刺激, 还有化学性质的协同刺激^[18]; 该检查中近端胃局部扩张刺激, 不能代替食物对食管和胃的多处协同刺激^[19,20]; (3)恒压器对近端胃的直接刺激会改变试餐在胃内的分布, 进而导致胃窦的过度松弛, 可能夸大胃容受性^[21,22].

以上均说明恒压器检测不够符合生理情况, 加之有创耗时也不易于为患者接受, 不利于作为常规的临床应用。

■研发前沿

目前三维超声、SPECT、MRI等用三维重建测量胃容量进而评估胃容受性的方法成为研究热点, 但这些方法操作复杂、价格昂贵, 很难在临床中广泛应用. 液体负荷试验是简便无创的方法, 但需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一, 以便用于大规模的临床研究中。

■相关报道

最近Akihito Iida关于快速饮入实验评估胃感觉和容受性的研究得出: Barostat气囊内压力导致的严重的不适感与饮水试验引起的最大饱足感呈正相关; Barostat测得的胃容受性与饮水试验引起饱胀感的阈值饮入量呈正相关; 且与安慰剂相比, 莫沙必利能够增加引起初始饱胀感容量。

2.2 经腹部的超声研究(transabdominal ultrasound studies) 超声技术已被广泛应用于近端胃适应性的研究中, 目前主要有二维超声(2D ultrasonography, 2DUS)和三维超声(3D ultrasonography, 3DUS)两种方法。Gilja等^[23]首次应用2DUS方法, 测量近端胃面积, 评价餐后近端胃适应性变化, 并提出2DUS在餐后20 min诊断胃容受性受损的敏感性约70%, 特异性约65%。国内学者黄旭群等^[24]也进行了相关研究, 发现FD患者试餐后近端胃容积明显小于对照组, 48.4%的患者近端胃舒张功能受损, 且FD患者不仅舒张容积减少, 同时舒张持续时间缩短。

3DUS通过创建胃的三维影像, 能够清楚显示全胃图像, 精确测量胃容积, 成为评价近端胃适应性的一种新方法, 已受到广泛地关注^[25,26]。近期Mundt等^[27]比较3DUS和恒压器对FD患者近端胃适应性评价的一致性, 结果显示三维超声测得的餐后5 min的近端胃容积与恒压器测定值有良好的相关性($r = 0.55$, $P = 0.002$), 恒压器测得的胃容受性受损的患者占46%, 而3DUS测得的患者占67%, 某些3DUS显示近端胃适应性异常的FD患者并未被恒压器方法发现。

国内应用液体营养餐负荷试验(liquid nutrient load test, LNLTL)分别结合2DUS和3DUS的方法, 评价FD患者与健康对照组的近端胃适应性功能^[28], 结果显示3DUS测量的最大饱感时近端胃容积较2DUS更为准确。

2DUS的成本低、无侵入性和辐射, 使用方便, 故其临床应用广泛; 3DUS检测法分辨率高, 可以更准确地测量胃容积, 也可以对胃排空^[29]、胃窦的运动功能、经幽门的流率及胃的容受性^[30]进行评估。而超声检测的难点主要集中在胃部气体和解剖结构(肋缘)的干扰方面, 故需要接受过专业培训和经验丰富的技术人员才能操作。此外, 胃窦位置较高、检测时胃内气体较多或过于肥胖的患者也不适用该方法。

2.3 核磁共振成像 核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)一种可测量空腹和餐后胃容量的非侵入性方法。受试者在进食标记钆(Gd)的试餐后进行MRI扫描, 采用“自旋回波T1加权成像序列”进行胃区成像及三维重建, 通过测量空腹和餐后胃容积的比值来反映胃容受性。MRI方法也可被用于研究胃内食物或药物分布和胃排空^[31,32]。

de Zwart等^[33]采用MRI及恒压器技术两种方

法测量受试者空腹胃容积, 结果显示MRI测得的空腹胃体积与恒压器测得的结果有很好的相关性。Fidler等^[34]采用MRI和SPECT测量健康志愿者的空腹及餐后胃容量, 结果显示MRI测量胃容量的方法重复性好, 单光子发射计算机断层显像技术(single-photon emission computed tomography, SPECT)测得的胃容量较MRI稍大。考虑主要是因为两种方法测胃容量的原理不同, 故MRI测量胃容积是可行且有效的。

MRI方法无辐射、安全性和准确性高, 并且能够在一次试验中评价胃的多种功能特性, 如胃容积、胃排空、胃内食物的分布和分泌功能等。但其成像要求的体位为仰卧位, 对于需要重力参与的液体胃排空评价可能存在偏差, 在成像过程中受试者需屏气以减少运动造成的虚像。且该方法费用昂贵, MRI数据处理需要特殊软件和特殊专业分析人员, 故很难广泛应用于临床。

2.4 单光子发射计算机断层显像技术 SPECT检测胃容积的原理是胃的壁细胞和非壁细胞均能够从血液循环中吸收和分泌^{99m}Tc放射性高锝酸钠^[35], 静脉注射10-20 m Ci的放射性高得酸钠后, 用 γ 相机进行轴平面断层成像, 进一步行数据的三维重建, 比较空腹和餐后的全胃容积, 从而评估胃容受性, 但不适合测量胃张力的改变及评估胃的感觉。

Kim等^[36]用SPECT测量FD患者和健康人的餐后与空腹胃容积比值, 结果显示41%的患者存在胃适应性受损, 而Tack等^[12]应用恒压器技术也得出类似的结果。也有国外学者Bouras等^[37]同时应用SPECT和恒压器测量胃容积, 发现SPECT测得的液体餐后胃容量与恒压器的测量值相关性好($P = 0.6$, $R^2 = 0.7$), 而且患者的近远端胃比值明显小于健康人。

Kuiken等^[3]的研究选了10个健康志愿者, 用SPECT测量空腹和餐后的胃容量, 结果显示平均空腹胃容量和平均餐后胃容量有显著差异, 观察者之间及观察者自身的变异系数在空腹及餐后均较小, 因此认为该技术具有可重复性。

国外很多研究已经显示SPECT方法评估胃容受性具有很好的可靠性和重复性^[38,39], 并且其非侵入性及较少影响胃的生理功能也是SPECT优于恒压器的两大特点。SPECT的主要不足之处在于使用放射性同位素, 有电离负荷暴露的风险。且SPECT成像花费较高, 不能单独测量胃的敏感性。另外与MRI相同, 其测量体位为卧位, 对

于受重力影响比较大的液体胃排空造成一定的影响。

2.5 液体营养餐负荷试验 不论是临床还是科研, 对功能性胃肠病患者的研究, 都应该采用对患者伤害最小的检测技术。因此, 符合患者生理状态、敏感性高和可重复性好的LNLT已发展为一种有潜力的非侵入性研究胃功能的方法。

LNLT是由Tack等^[12]首先提出的, 依据是假定胃适应性障碍导致胃容积受限, 并通过最大摄入量反映出来。该方法简便易行、符合进食生理、无侵入性和临床实用价值高等优点, 广泛应用于FD患者胃容受性评价的研究中。但目前该方法因试餐种类、饮入速度等差异, 使得其对胃适应性的评价结果不尽相同。以下将对影响试验结果的不同因素逐一讨论。

2.5.1 液体试餐种类: 目前常用的液体试餐有Nutridrink、肉汤、Ensure等。来自欧洲的研究多采用Nutridrink^[12,40], 其热量密度为1.5 kcal/mL, 其中碳水化合物48%, 蛋白质13%, 脂肪39%。而美国的学者多采用Ensure^[41], 其热量密度为0.95 kcal/mL, 其中碳水化合物65.6%, 蛋白质17.2%, 脂肪17.2%; 此外还有肉汤(meat soup), 热量密度为4 kcal/100 mL, 其中碳水化合物27.5%, 蛋白质45%, 脂肪22.5%, 其他不溶物质5%^[23]。

2.5.2 液体试餐饮入速度: 饮入速度以慢速(15 mL/min)和快速(100 mL/min)最为常用。Tack等^[40]比较慢速饮入法与恒压器方法时发现两种方法有很好的相关性($r = 0.76, P < 0.001$), LNLT评价近端胃适应性受损的灵敏度(92%)、特异度(86%)均较高。最近Iida等^[42]也同时应用Barostat和慢速LNLT研究胃感觉和容受性功能, 结果显示: 受试者的最大耐受压力与最大饱足饮入量呈正相关($r = 0.60, P = 0.02$); Barostat测得的餐后胃容受性与饱胀感时饮入量呈正相关($r = 0.59, P = 0.03$)。

而Boeckxstaens等^[43]采用快速饮入法在健康对照和FD患者中均未发现最大摄入量与近端胃容受性和敏感性之间存在明确相关性。

Boeckxstaens认为慢速饮入试验受胃排空影响较多。但Tack认为胃调节反应是一种慢反射, 在快速饮入试验中胃的调节反应未来得及充分发挥, 尤其在FD患者中饮入时间更短, 不适合用来评估食物诱导的胃适应性反应^[44]。且其另一项研究应用核素胃排空方法, 观察了健康人慢速饮入Nutridrink后胃内液体试餐分布情况, 发现

即使在LNLT的后期仍有77%±4%的液体试餐存留于胃内, 可见慢速饮入模式并不会受胃排空的明显影响^[45]。

Hjelland等^[46]的研究发现Nutridrink试餐富含脂肪, 饮入过程中可能产生较饮入肉汤或纯水更多的不适症状, 健康人和患者在快速引入时均难以饮入大量试餐, FD和健康人的胃容受能力差异可能不显著; 而较慢的速度饮入时, 受试者可以饮入更多的量, 更适宜评价胃容受性。

国内学者^[47]比较健康人和FD患者的不同饮入模式时, 结果提示慢速饮入法的阈值饮入量能较精确反映胃内脏感觉高敏, 而快速模式的饱足饮入量可反映胃适应性调节。

2.5.3 液体试餐饮入方式: 除了传统的经口饮入试餐, 我国柯美云教授^[48]提出了灌注法液体试餐的饮入方法, 即通过鼻胃管将液体营养餐直接灌注进胃内, 并将营养液用不透明障碍物遮蔽, 从而排除受试者精神心理因素对试验结果的影响, 使最大饱足饮入量更可能真实地反映胃适应性。进一步的研究显示灌注法最大饱足饮入量与超声测量的近端胃容积明确相关。但由于P-NLT是通过鼻胃肠管直接向胃内灌注液体, 不能提供进食状态时、多部位、多重性质的刺激方式, 似乎不符合生理状态下的进食过程, 其可靠性和有效性尚需进一步证实。

2.5.4 液体试餐联合胃内压方法: 国内有学者^[49]认为胃容受性和敏感性异常均影响液体试餐的最大饮入量, 单用最大饮入量改变表示胃容受性受损不合理, 故提出LNLT结合胃内压的方法区别胃容受性和敏感性。

张静等^[48]应用灌注法LNLT结合胃内压测定的方法, 结果显示: 43.4%的FD患者胃感觉高敏, 33.3%存在胃适应性障碍, 而17.4%的患者同时存在胃感觉高敏和胃部适应性障碍, 进一步说明LNLT结合胃内压的方法能够较好地地区分胃感觉高敏和容受性障碍。但是由于胃内压检测并不稳定, 尤其是在饮入液体试餐之后, 且其并未与金标准恒压器方法进行比较, 故其准确性有待证实。

总之, LNLT方法因其无侵入性、简便易行、价格低廉、符合患者进食病理生理状态、易于被受试者接受等, 显示其很好的临床实用价值。但LNLT饮入量指标变异度较大, 不可避免地受到受试者味觉、口味偏好、精神心理等方面的影响。而灌注法液体试餐试验及LNLT联合

■ 创新盘点

本文系统地总结了当前近端胃适应性功能检测技术, 并全面地阐述了不同方法的优缺点。尤其是对简便无创的液体试餐试验从试餐种类、饮入速度、饮入方式等各个方面进行了探讨, 并进行了较为深入的分析, 对临床应用和研究有较好的参考价值。

■应用要点

“金标准”恒压器技术因其侵入性难以广泛应用于临床,而三维超声、SPECT、MRI等虽然可用三维重建测量胃容量,但其操作复杂、价格昂贵,使其临床应用受到限制。液体负荷试验简便无创,但需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一,以便将来用于大规模的临床研究中,为功能性胃肠病的诊治带来新的曙光。

胃内压测定方法的可靠性及有效性尚需进一步证实。另外, LNL T方法尚缺乏统一的标准,如液体试餐种类、饮入速度等,这不利于相关研究结果之间的比较和借鉴。

3 结论

恒压器仍是研究近端胃敏感性及适应性功能的“金标准”,但因其侵入性和不符合患者的生理状态,目前急需发展能够替代他的非侵入性且受试者易于接受的方法。三维超声、SPECT、MRI等虽然可用三维重建测量胃容量进而评估胃容受性,但这些方法操作复杂、价格昂贵,很难在临床中广泛应用。液体负荷试验是简便无创的方法,受试者不可避免地会受到精神、心理、社会等因素的影响,主观性的判断缺乏统一的标准,势必会影响试验结果的准确性和客观性。而PNLT及液体负荷试验结合胃内压等方法的提出,改进了液体负荷试验的不足,但其有效性仍需与金标准恒压器方法比较后证实。且需对液体试餐的种类、饮入速度、饮入方式等方面进行统一,以便将来用于大规模的临床研究及药代动力学研究中,为功能性胃肠病的诊治带来新的曙光。

4 参考文献

- 1 德罗斯曼, 主编; 柯美云, 方秀才, 译. 罗马Ⅲ: 功能性胃肠病. 北京: 科学出版社, 2008: 373-375
- 2 Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 127: 1239-1255 [PMID: 15481001 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.05.030]
- 3 Kuiken SD, Samsom M, Camilleri M, Mullan BP, Burton DD, Kost LJ, Hardyman TJ, Brinkmann BH, O'Connor MK. Development of a test to measure gastric accommodation in humans. *Am J Physiol* 1999; 277: G1217-G1221 [PMID: 10600819]
- 4 Van den Berghe PD, Vos R, Janssens J, Tack J. Site of triggering of the accommodation reflex in man. *Gastroenterology* 2000; 114: A185 [DOI: 10.1016/S0016-5085(00)82816-4]
- 5 Schwizer W, Steingötter A, Fox M, Zur T, Thumshirn M, Bösigler P, Fried M. Non-invasive measurement of gastric accommodation in humans. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i59-i62 [PMID: 12077068 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i59]
- 6 Thumshirn M, Camilleri M, Saslow SB, Williams DE, Burton DD, Hanson RB. Gastric accommodation in non-ulcer dyspepsia and the roles of Helicobacter pylori infection and vagal function. *Gut* 1999; 44: 55-64 [PMID: 9862826 DOI: 10.1136/gut.44.1.55]
- 7 Thumshirn M. Pathophysiology of functional dyspepsia. *Gut* 2002; 51 (Suppl 1): i63-i66 [PMID: 12077069 DOI: 10.1136/gut.51.suppl_1.i63]
- 8 Samsom M, Salet GA, Roelofs JM, Akkermans LM, Vanberge-Henegouwen GP, Smout AJ. Compliance of the proximal stomach and dyspeptic symptoms in patients with type I diabetes mellitus. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 2037-2042 [PMID: 7555462 DOI: 10.1007/BF02208676]
- 9 Thumshirn M, Camilleri M, Hanson RB, Williams DE, Schei AJ, Kammer PP. Gastric mechanosensory and lower esophageal sphincter function in rumination syndrome. *Am J Physiol* 1998; 275: G314-G321 [PMID: 9688659]
- 10 Wijnhoven BP, Salet GA, Roelofs JM, Smout AJ, Akkermans LM, Gooszen HG. Function of the proximal stomach after Nissen fundoplication. *Br J Surg* 1998; 85: 267-271 [PMID: 9501833 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00505.x]
- 11 Azpiroz F, Malagelada JR. Gastric tone measured by an electronic barostat in health and postsurgical gastroparesis. *Gastroenterology* 1987; 92: 934-943 [PMID: 3556999]
- 12 Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1998; 115: 1346-1352 [PMID: 9834261 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70012-5]
- 13 Sarnelli G, Vos R, Cuomo R, Janssens J, Tack J. Reproducibility of gastric barostat studies in healthy controls and in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1047-1053 [PMID: 11316145 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03520.x]
- 14 Tack J, Demedts I, Meulemans A, Schuurkes J, Janssens J. Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. *Gut* 2002; 51: 219-224 [PMID: 12117883 DOI: 10.1136/gut.51.2.219]
- 15 Sun Y, Liu FL, Song GQ, Qian W, Hou XH. Effects of acute and chronic restraint stress on visceral sensitivity and neuroendocrine hormones in rats. *Chin J Dig Dis* 2006; 7: 149-155 [PMID: 16808795 DOI: 10.1111/j.1443-9573.2006.00260.x]
- 16 Fischler B, Tack J, De Gucht V, Shkedy ZI, Persoons P, Broekaert D, Molenberghs G, Janssens J. Heterogeneity of symptom pattern, psychosocial factors, and pathophysiological mechanisms in severe functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2003; 124: 903-910 [PMID: 12671886 DOI: 10.1053/gast.2003.50155]
- 17 Arts J, Caenepeel P, Verbeke K, Tack J. Influence of erythromycin on gastric emptying and meal related symptoms in functional dyspepsia with delayed gastric emptying. *Gut* 2005; 54: 455-460 [PMID: 15753526 DOI: 10.1136/gut.2003.035279]
- 18 Geeraerts B, Van Den Eynden J, Vermaelen P. Regional brain activation during gastric balloon distention and gastric nutrient infusion in healthy volunteers: A PET study. *Gastroenterology* 2005; 128 (Suppl 2): W1480
- 19 Kern MK, Lawal A, Sanjeevi A. Activation topography of the insula and cingulate gyrus during upper and lower gut sensory stimulation. *Gastroenterology* 2005; 128 (Suppl 2): W1482
- 20 Vandenberghe J, Dupont P, Fischler B, Bormans G, Persoons P, Janssens J, Tack J. Regional brain activation during proximal stomach distention in humans: A positron emission tomography study. *Gastroenterology* 2005; 128: 564-573 [PMID: 15765391 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.054]
- 21 Mundt MW, Hausken T, Samsom M. Effect of intragastric barostat bag on proximal and distal gastric accommodation in response to liquid meal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:

- G681-G686 [PMID: 12181183]
- 22 de Zwart IM, Haans JJ, Verbeek P, Eilers PH, de Roos A, Masclee AA. Gastric accommodation and motility are influenced by the barostat device: Assessment with magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G208-G214 [PMID: 16891299 DOI: 10.1152/ajpgi.00151.2006]
 - 23 Gilja OH, Hausken T, Wilhelmsen I, Berstad A. Impaired accommodation of proximal stomach to a meal in functional dyspepsia. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 689-696 [PMID: 8674389 DOI: 10.1007/BF02213124]
 - 24 黄旭群, 许军英, 侯晓华. B超法测定功能性消化不良患者近端胃容纳舒张功能. *实用医学杂志* 2006; 22: 888-890
 - 25 Gilja OH, Hausken T, Odegaard S, Berstad A. Three-dimensional ultrasonography of the gastric antrum in patients with functional dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 847-855 [PMID: 8888430 DOI: 10.3109/00365529609051991]
 - 26 Gilja OH, Detmer PR, Jong JM, Leotta DF, Li XN, Beach KW, Martin R, Strandness DE. Intra-gastric distribution and gastric emptying assessed by three-dimensional ultrasonography. *Gastroenterology* 1997; 113: 38-49 [PMID: 9207260 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70078-7]
 - 27 Mundt MW, Samsom M. Fundal dysaccommodation in functional dyspepsia: head-to-head comparison between the barostat and three-dimensional ultrasonographic technique. *Gut* 2006; 55: 1725-1730 [PMID: 16439420 DOI: 10.1136/gut.2004.062836]
 - 28 张静. 3DUS胃重建评价近端胃适应性功能. *中国协和医科大学*, 2009: 76-80
 - 29 Bolondi L, Bortolotti M, Santi V, Calletti T, Gaiani S, Labò G. Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography. *Gastroenterology* 1985; 89: 752-759 [PMID: 3896910]
 - 30 Gilja OH, Hausken T, Odegaard S, Berstad A. Monitoring postprandial size of the proximal stomach by ultrasonography. *J Ultrasound Med* 1995; 14: 81-89 [PMID: 8568967]
 - 31 Marciani L, Gowland PA, Spiller RC, Manoj P, Moore RJ, Young P, Fillery-Travis AJ. Effect of meal viscosity and nutrients on satiety, intragastric dilution, and emptying assessed by MRI. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1227-G1233 [PMID: 11352816]
 - 32 Kunz P, Feinle C, Schwizer W, Fried M, Boesiger P. Assessment of gastric motor function during the emptying of solid and liquid meals in humans by MRI. *J Magn Reson Imaging* 1999; 9: 75-80 [PMID: 10030653 DOI: 10.1002/(SICI)1522-2586(199901)9:1<75::AID-JMRI10>3.0.CO;2-I]
 - 33 de Zwart IM, Mearadji B, Lamb HJ, Eilers PH, Masclee AA, de Roos A, Kunz P. Gastric motility: comparison of assessment with real-time MR imaging or barostat measurement initial experience. *Radiology* 2002; 224: 592-597 [PMID: 12147861 DOI: 10.1148/radiol.2242011412]
 - 34 Fidler J, Bharucha AE, Camilleri M, Camp J, Burton D, Grimm R, Riederer SJ, Robb RA, Zinsmeister AR. Application of magnetic resonance imaging to measure fasting and postprandial volumes in humans. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 42-51 [PMID: 19019018 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01194.x]
 - 35 O'Connor MK, O'Connell R, Keane FB, Byrne PJ, Hennessy TP. The relationship between technetium 99m pertechnetate gastric scanning and gastric contents. *Br J Radiol* 1983; 56: 817-822 [PMID: 6313111 DOI: 10.1259/0007-1285-56-671-817]
 - 36 Kim DY, Delgado-Aros S, Camilleri M, Samsom M, Murray JA, O'Connor MK, Brinkmann BH, Stephens DA, Lighvani SS, Burton DD. Noninvasive measurement of gastric accommodation in patients with idiopathic nonulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3099-3105 [PMID: 11721755 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.05264.x]
 - 37 Bouras EP, Delgado-Aros S, Camilleri M, Castillo EJ, Burton DD, Thomforde GM, Chial HJ. SPECT imaging of the stomach: comparison with barostat, and effects of sex, age, body mass index, and fundoplication. Single photon emission computed tomography. *Gut* 2002; 51: 781-786 [PMID: 12427776 DOI: 10.1136/gut.51.6.781]
 - 38 Breen M, Camilleri M, Burton D, Zinsmeister A. Performance characteristics of the measurement of gastric volume using single photon emission computed tomography. *Neurogastro Motil* 2011; 23: 308-315 [PMID 21210894 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01660.x]
 - 39 Vasavid P, Chaiwatanarata T, Gonlachanvit S. The Reproducibility of Tc-Pertechnetate Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) for Measurement of Gastric Accommodation in Healthy Humans: Evaluation of the Test Results Performed at the Same Time and Different Time of the Day. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 401-406 [PMID: 21103421 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.4.401]
 - 40 Tack J, Caenepeel P, Piessevaux H, Cuomo R, Janssens J. Assessment of meal induced gastric accommodation by a satiety drinking test in health and in severe functional dyspepsia. *Gut* 2003; 52: 1271-1277 [PMID: 12912857]
 - 41 Gonenne J, Castillo EJ, Camilleri M, Burton D, Thomforde GM, Baxter KL, Zinsmeister AR. Does the nutrient drink test accurately predict postprandial gastric volume in health and community dyspepsia? *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 44-50 [PMID: 15670263 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2004.00588.x]
 - 42 Iida A, Konagaya T, Kaneko H, Funaki Y, Kanazawa T, Tokudome K, Hijikata Y, Masui R, Ogasawara N, Sasaki M, Yoneda M, Kasugai K. Usefulness of a slow nutrient drinking test for evaluating gastric perception and accommodation. *Digestion* 2011; 84: 253-260 [PMID: 21952611 DOI: 10.1159/000330843]
 - 43 Boeckxstaens GE, Hirsch DP, van den Elzen BD, Heisterkamp SH, Tytgat GN. Impaired drinking capacity in patients with functional dyspepsia: relationship with proximal stomach function. *Gastroenterology* 2001; 121: 1054-1063 [PMID: 11677196 DOI: 10.1053/gast.2001.28656]
 - 44 Tack J. Drink tests in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2002; 122: 2093-2094 [DOI: 10.1053/gast.2002.34022]
 - 45 Piessevaux H, Dewit O, Tack J, Walrand S, Janssens J, Pauwels S, Geubel A. Intra-gastric distribution pattern of a liquid meal during satiety testing in healthy volunteers. *Gastroenterology* 2000; 118: A670 [DOI: 10.1016/S0016-5085(00)84816-7]
 - 46 Hjelldal IE, Ofstad AP, Narvestad JK, Berstad A, Hausken T. Drink tests in functional dyspepsia: which drink is best? *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:

同行评价

本文较全面的综述了当前功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术, 并较为全面地阐述了不同方法的优缺点, 对临床应用和研究有较好的参考价值。

- 933-937 [PMID: 15513330 DOI: 10.1080/00365520410003344]
 47 郑可, 柯美云, 王智凤. 应用液体营养负荷试验评估健康人近端胃功能. 基础医学临床 2007; 27: 319-323
 48 张静, 孙晓红, 王智凤, 柯美云. 灌注法液体营养餐负

荷试验——一种评价近端胃适应性的新方法. 中华消化杂志 2010; 30: 518-521
 49 宋志强, 柯美云. 液体负荷试验同步胃内压测定评价胃部感觉和容受功能. 中华医学杂志 2010; 90: 547-550

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

重度胃轻瘫治疗方式的研究进展

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏, 中国中医科学院广安门医院内分泌科 北京市 100053
李君玲, 田佳星, 北京中医药大学 北京市 100029
李君玲, 主要从事糖尿病及其并发症中医药防治的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81173259
作者贡献分布: 本文综述主要由李君玲完成; 逢冰、田佳星及周强参与文献资料的查阅; 仝小林与李敏审校。
通讯作者: 李敏, 研究员, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院。julian1224@126.com
收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-06-04
接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-09-08

Treatments for severe gastroparesis

Jun-Ling Li, Xiao-Lin Tong, Bing Pang, Jia-Xing Tian, Qiang Zhou, Min Li

Jun-Ling Li, Xiao-Lin Tong, Bing Pang, Jia-Xing Tian, Qiang Zhou, Min Li, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Jun-Ling Li, Jia-Xing Tian, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173259
Correspondence to: Min Li, Researcher, Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiang, Xicheng District, Beijing 100053, China. julian1224@126.com
Received: 2013-05-13 Revised: 2013-06-04
Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-09-08

Abstract

Severe gastroparesis is a kind of gastroparesis that is refractory to conventional drug therapy and requires nutritional support and frequently emergency hospitalization. The selection of treatment for severe gastroparesis has always been a dilemma for clinicians. Currently, there have been limited reports on the treatment of severe gastroparesis. This article sums up the primary treatments, drug treatments and other kinds of treatments for severe gastroparesis and discusses the prospects for the treatment of this refractory disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Severe gastroparesis; Treatment; Research

Li JL, Tong XL, Pang B, Tian JX, Zhou Q, Li M. Treatments for severe gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2537-2543 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2537.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2537>

摘要

重度胃轻瘫是对常规治疗胃轻瘫药物无效、需进行营养支持以及频繁需要急诊住院治疗的难治性胃轻瘫。对于重度胃轻瘫治疗方式选择一直是临床医师所面临的难题, 国内外也少见对重度胃轻瘫治疗的文献报道, 本文通过查阅国内外有限的相关重度胃轻瘫治疗文献, 系统阐述了基础治疗、药物治疗以及其他方式治疗重度胃轻瘫的研究进展, 并对重度胃轻瘫治疗方式的研究方向进行了展望。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 重度胃轻瘫; 治疗; 研究

核心提示: 胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒菌素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式, 中医中药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效, 积极开展相关研究工作是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏. 重度胃轻瘫治疗方式的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2537-2543
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2537.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2537>

0 引言

胃轻瘫是一种排除机械性梗阻、以固体胃排空延迟为主要特点的症状群^[1], 临床主要表现为恶心、呕吐、早饱以及餐后饱胀等。特发性胃轻瘫、糖尿病、帕金森氏病、胶原血管病等都是引发胃轻瘫的重要原因^[2]。目前对胃轻瘫的药物治疗主要是促胃动力药物的使用, 如红霉素、胃复安、多潘立酮以及西沙比利等, 疗效证实尚可^[3]。然而, 在胃轻瘫患者当中还存在很多重度胃轻瘫患者, 主要表现为对这些常规治疗药物的无效性, 需进行营养支持以及频繁的

■背景资料

重度胃轻瘫是对常规治疗胃轻瘫药物无效、需进行营养支持以及频繁需要急诊住院治疗的难治性胃轻瘫。目前对于重度胃轻瘫的治疗方式是临床医师所面临的难题, 通过查阅国内外相关重度胃轻瘫治疗文献, 对目前国内外治疗重度胃轻瘫的方式做一综述对于临床医师治疗重度胃轻瘫具有重要参考意义。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 研发前沿

胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒毒素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式, 中医中药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效, 积极开展相关研究工作是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

急诊住院治疗^[4]。作为重度胃轻瘫的主要临床表现, 频繁的恶心呕吐^[5]往往可导致患者电解质紊乱、脱水等, 同时降低工作、生活能力, 给社会和家庭带来沉重的负担^[6,7], 对于糖尿病重度胃轻瘫患者来说, 频繁恶心呕吐更使血糖难于控制, 极容易发生危险状况^[8,9]。然而对于重度胃轻瘫患者的治疗方式一直是临床学者所面临的难题, 目前为止, 国内外亦少见相关文献报道, 因此本文查阅国内外有限的重度胃轻瘫相关文献报道, 并对各学者的研究成果作一综述, 以期对临床有所帮助。

1 基础治疗

对于胃轻瘫患者的饮食建议往往是少食、多餐、低脂低纤维等。而对于难治性症状反复发作入院、影响正常的营养和药物吸收的重度胃轻瘫患者来说, 营养支持往往是必要的^[10]。目前主要的营养支持包括肠内营养和全胃肠外营养。肠内营养相对于全胃肠外营养来说具有价格低廉、较少有感染并发症的优势, 通过肠内营养能够为患者提供足够的营养物质以及药物治疗, 并且当患者可以经口服摄入足够的营养物质时, 内镜下的置管可以很容易取出。Schlüter等^[11]报道, 一例经胃动力药久治无效、几乎不能进食的糖尿病重度胃轻瘫患者, 安放一根永久性鼻-十二指肠管予以管饲, 患者的营养状态明显好转。相对于肠内营养来说, 全胃肠外营养很少是胃轻瘫患者所必要的, 除非是肠内营养失败或者小肠、结肠都出现了功能失调, 而一旦实行全胃肠外营养支持, 则必须对患者进行密切的临床和实验室检测以防止代谢紊乱。

2 血糖控制

对于胃轻瘫患者尤其是糖尿病胃轻瘫患者来说, 控制血糖是至关重要的。有资料证明高血糖本身具有破坏胃排空的作用^[12]。另一方面, 高血糖也可能降低胃对促胃动力药物如红霉素的作用, 有报道高血糖($>15\text{ mmol/L}$)可以通过减弱红霉素对胃窦运动的动力作用从而降低红霉素促胃动力作用的效果^[13,14], 因此对于每一个胃轻瘫的患者来说, 控制血糖都是一种至关重要的基础治疗方式。同时, 应注意对于糖尿病胃轻瘫患者, 一些影响胃排空的降糖药物也应停用, 如降糖药物二甲双胍、阿卡波糖等均有胃肠道反应, 而醋酸普兰林肽、胰高血糖素样肽-1(glucagon

like peptide-1, GLP-1)本身就有延缓胃排空的作用。

3 药物治疗

多巴胺受体拮抗剂如胃复安、多潘立酮等, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)受体激动剂如西沙比利等是目前治疗胃轻瘫的常规治疗药物, 同时新的相关药物也正在不断研制, 如舒必利、伊托必利等, 均被许多实验证实具有治疗胃轻瘫的前景^[15-17], 然而对于治疗重度胃轻瘫, 目前只有以下少数几种有过临床报道。

3.1 红霉素 大环内酯类红霉素是一种强大的促胃动力药, 在一项由Sturm等^[18]对目前常用的促胃动力口服药物(D2受体阻滞剂、西沙比利、红霉素)的系统分析中, 红霉素被认为是对于改善胃排空的最有效的治疗药物。同时在一项单中心回顾性研究中, DiBaise等^[19]发现静脉点滴红霉素治疗14例重度胃轻瘫患者, 仅有1例无效, 其余皆有明显效果。但是红霉素属于抗生素, 具有快速耐受性, 长期的口服治疗具有局限性。因此寻找一种具有促胃动力作用而又不具有抗菌性能的红霉素类似物亟待解决。ABT-229是第一种被用于临床实验的胃动素受体激动剂, 遗憾的是, 该实验证实与安慰剂组相比, ABT-229并没有缓解具有胃排空延迟的功能性消化不良患者的临床症状^[20-22]。GM-611是由中外制药(Chugai Pharma)实验室发现的一种由红霉素衍生而来的胃动素受体激动剂, 在一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照的糖尿病胃轻瘫研究中, McCallum等^[23]发现GM-611的10 mg, bid用量对于缓解消化系症状有明显效果, 然而对于这些新生药物治疗重度胃轻瘫的效果仍然有待研究。

3.2 胃促生长素 胃促生长素(ghrelin)是一种主要由胃黏膜组织产生的生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHSR)的内源性配体, 参与调节胃肠道动力^[24,25]。已经证实, 在特发性胃轻瘫以及糖尿病胃轻瘫的患者中, 合理使用胃促生长素具有显著的促进胃排空作用^[26-28]。然而, 外源性的胃促生长素具有较短的半衰期^[29], 因此限制了用于临床治疗的潜力。TZP-101是一种对人类胃促生长素受体具有很强亲和力的选择性胃促生长素受体激动剂^[30], 有研究对23例具有严重恶心呕吐的重度胃轻瘫患者输注不同剂量的TZP-101进行治疗, 通过GCSI进行胃轻瘫疗效评价, 证实TZP-101能够显著改善

重度胃轻瘫患者的临床症状, 预测TZP-101将成为治疗重度胃轻瘫非常有潜力的药物^[31]。

3.3 抗抑郁药 目前越来越多的学者发现心理因素与胃轻瘫疾病之间的重要相关性, 而国外的一些运用抗抑郁药治疗重度胃轻瘫的医案报道也使我们在寻找治疗重度胃轻瘫方式之路上眼前一亮。

3.3.1 米氮平: 米氮平是一种具有去甲肾上腺素作用的抗抑郁药, 他同时具有特异性阻滞5-HT₃受体的作用, 因此临床中常用于治疗由癌症放疗后、胃旁路手术后等引起的恶心呕吐的治疗^[32-35]。Kim等^[36]首先报道了一例对红霉素、胃复安、多潘立酮甚至于幽门注射A型肉毒毒素无效的患者, 在接受米氮平治疗后, 恶心呕吐症状迅速好转的病例, 为临床治疗重度胃轻瘫患者提供了光明的前景。

3.3.2 阿瑞吡坦: 阿瑞吡坦是一种神经激肽-1(neurokinin-1, NK-1)受体拮抗剂(即P物质拮抗剂), 该物质通过与大脑中NK-1受体结合, 对该受体进行拮抗, 从而治疗由P物质介导的疾患, 如抑郁症、呕吐等。在一些由化疗引起的恶心呕吐症状中, 该药物被证实具有较高的有效性并被广泛推荐使用^[37,38]。Chong等^[39]首次报道以80 mg, qd的阿瑞吡坦治疗1例对静脉注射以及口服胃促动力药等治疗方式无效的呕吐剧烈的糖尿病重度胃轻瘫患者, 在使用第1次的24 h内即停止了呕吐, 并且在使用4 mo中均未发生呕吐症状。该报道的出现为治疗重度胃轻瘫指出了一种新的治疗方式, 不过值得指出的是有报道称^[40], 阿瑞吡坦在对正常人的肠道动力方面并没有显示明显的作用, 同时有报道称阿瑞吡坦在治疗化疗后引起的恶心呕吐症状过程中可能会引起一些轻微的不良反应, 如打嗝、疲劳、肝功升高、便秘、头痛以及食欲下降。

4 其他治疗方法

4.1 胃电起搏治疗 在寻找重度胃轻瘫的治疗方法中, 胃电起搏治疗是目前临床研究中最为广泛使用的治疗方式。早在在20世纪70年代初期, 人们就发现胃肠肌电活动与收缩活动之间的密切关系^[41,42], Kelly和La Force^[43]运用犬模型证实胃电刺激可以引发引起胃平滑肌的顺行和逆行传导的慢波活动。Familoni等^[44]则首次对1例糖尿病重度胃轻瘫的患者进行了为期超过1年的胃电刺激治疗, 在缓解恶心呕吐症状上取得了巨大疗效, 该结果为以后胃电刺激治疗的研究

奠定了基础。2000年, 一种高频、低能量的胃电刺激装置(enterra system)被美国食品与药品管理局(FDA)同意作为具有难治性恶心、呕吐症状的胃轻瘫患者的治疗方式^[45]。大量临床实验研究从胃排空检查、临床症状、患者生活质量、体质量变化、摄取营养方式等各方面变化证实胃电起搏治疗对于治疗重度胃轻瘫的广阔前景^[46-50]。然而, 目前为止, 对于胃电起搏治疗胃轻瘫的机制并不明确, 最为广泛的解释是胃电刺激对中枢神经系统的影响^[51-53]。同时由于胃电刺激属于侵入性治疗方法, 感染成为接受该治疗方式的胃轻瘫患者尤其是糖尿病胃轻瘫患者的主要风险^[54,55]。在Chu等^[50]的系统评价报告中, 胃电刺激引起的不良反应, 感染占3.87%, 设备迁移占2.69%, 植入部位疼痛占0.67%。因此对于进行胃电起搏治疗应谨慎从事, 临时的胃电刺激可以检测患者是否适合进行该项治疗^[56]。此外, 根据胃起搏点的电活动可被外加电流刺激所驱动原理设计的体外胃电起搏为临床提供了一种新的治疗手段^[57]。

4.2 内镜治疗 胃窦运动减弱以及由于幽门功能障碍引起的胃出口阻力增加是胃轻瘫患者的一种重要的生理性紊乱^[58-60]。肉毒菌素A是一种胆碱能神经肌肉传递抑制剂, 通过局部注射, 可以治疗包括平滑肌和横纹肌在内的肌肉痉挛性疾病^[61]。肉毒毒素A通过不可逆的干扰乙酰胆碱释放而抑制胆碱能神经递质^[62]。目前, 临床中经常通过在食管下括约肌中注射肉毒毒素A来治疗贲门失弛缓症, 疗效较好^[63]。同时许多临床研究中也证实将其注射于消化道的其他部位也是十分安全的。许多研究通过在幽门括约肌处注射A型肉毒菌素治疗胃轻瘫^[64,65]。有学者采用内镜下注射肉毒杆菌毒素降低幽门张力以增加胃排空, 改善DGP的症状^[10]。Bromer等^[66]更是直接对接受肉毒菌素治疗的63例重度胃轻瘫患者进行了一项回顾性研究。结果显示43%的患者对于肉毒菌素的治疗是有效果的, 同时男性患者与治疗效果具有相关性, 遗憾的是, 呕吐作为重度胃轻瘫的主要症状缓解并不明显。

4.3 外科手术 目前为止, 对于顽固性胃轻瘫患者多考虑外科手术治疗方法, 常用的手术方法主要有幽门成形术、幽门口扩张术、胃大部切除、胃造口等^[67]。对于其疗效还是可以肯定的, Watkins等^[68]观察了伴顽固性呕吐的18例DGP患者, 发现全胃或次全胃切除术可以明显缓解严重胃轻瘫导致的难治性呕吐, 有6例患者术后呕

■相关报道

2000年, 一种高频、低能量的胃电刺激装置被美国食品与药品管理局(FDA)同意作为具有难治性恶心、呕吐症状的胃轻瘫患者的治疗方式。

■创新盘点

本文对国内外散见的治疗重度胃轻瘫的文献报道进行了归纳总结评论。

吐立刻缓解,随访6年无1例复发,生活质量显著提高,然而值得注意的是,手术治疗需要经过严格的病例选择并且具有术后感染、营养不良以及肾功能不全的危险,这就限制了手术治疗的使用范围。

4.4 中医药治疗 中医学是祖国传统医学宝库,具有辨证论治、整体治疗及相对廉价、非侵入性等优点,从中医药中寻找治疗重度胃轻瘫的方法具有广阔前景。然而目前为止国内尚未有对重度胃轻瘫临床疗效的文献研究,仅散见对个案治疗的报道,疗效显著。周强等^[69]报道全小林教授以附子理中汤为主方加减治疗1例呕吐剧烈、西药治疗5月余无效的糖尿病患者,6剂吐止,半月体质量增加1 kg。魏玉玲等^[70]报道以枳术丸加减治疗1例使用止吐药腹泻加重,使用止泻药而呕吐甚的“食入即吐”同时伴腹泻症状的糖尿病胃轻瘫患者,症状均有改善。黄颖秋^[71]总结认为许多中药具有促胃动力、胃肠动力及双向调节胃肠动力的作用,此为中医治疗胃轻瘫的作用基础,然而中医的辨证论治的治疗思路却是取得整体疗效的根本,值得学者们进行深入的探究。

5 结论

目前对于重度胃轻瘫治疗方式较为局限,胃电刺激、手术治疗以及内镜下注射肉毒菌素是目前治疗重度胃轻瘫的主要选择方式,然而亦多有感染、营养不良等手术不良反应,深入探究重度胃轻瘫的发生机制并以此为出发点研发新的治疗方式具有重要意义。值得注意的是,中医中药治疗重度胃轻瘫往往有意想不到的疗效,且具有廉价、无明显不良反应的优势,遗憾的是目前为止国内外尚未有较为完善的中医药治疗重度胃轻瘫的临床报道及研究工作,积极开展相关研究工作将是寻找治疗重度胃轻瘫新的治疗方式的一项重要选择。

6 参考文献

- 1 Agrawal S, Stollman NH, Rogers AI. University of Miami Division of Clinical Pharmacology therapeutic rounds: update on diagnosis and treatment of gastroparesis. *Am J Ther* 1999; 6: 97-109 [PMID: 10423652 DOI: 10.1097/00045391-199903000-00007]
- 2 Soykan I, Sivri B, Sarosiek I, Kiernan B, McCallum RW. Demography, clinical characteristics, psychological and abuse profiles, treatment, and long-term follow-up of patients with gastroparesis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 2398-2404 [PMID: 9824125 DOI: 10.1023/A:1026665728213]
- 3 Syed AA, Rattansingh A, Furtado SD. Current per-

spectives on the management of gastroparesis. *J Postgrad Med* 2005; 51: 54-60 [PMID: 15793344]

- 4 Abell TL, Bernstein RK, Cutts T, Farrugia G, Forster J, Hasler WL, McCallum RW, Olden KW, Parkman HP, Parrish CR, Pasricha PJ, Prather CM, Soffer EE, Twillman R, Vinik AI. Treatment of gastroparesis: a multidisciplinary clinical review. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 263-283 [PMID: 16553582 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00760.x]
- 5 Bielefeldt K, Raza N, Zickmund SL. Different faces of gastroparesis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 6052-6060 [PMID: 20027677 DOI: 10.3748/wjg.15.6052]
- 6 Hyett B, Martinez FJ, Gill BM, Mehra S, Lembo A, Kelly CP, Leffler DA. Delayed radionuclide gastric emptying studies predict morbidity in diabetics with symptoms of gastroparesis. *Gastroenterology* 2009; 137: 445-452 [PMID: 19410575 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.055]
- 7 Reddymasu SC, Sarosiek I, McCallum RW. Severe gastroparesis: medical therapy or gastric electrical stimulation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 117-124 [PMID: 19765675 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.09.010]
- 8 Kuo P, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Pathophysiology and management of diabetic gastropathy: a guide for endocrinologists. *Drugs* 2007; 67: 1671-1687 [PMID: 17683169 DOI: 10.2165/00003495-200767120-00003]
- 9 Ma J, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Diabetic gastroparesis: diagnosis and management. *Drugs* 2009; 69: 971-986 [PMID: 19496627 DOI: 10.2165/0003495-200969080-00003]
- 10 Camilleri M. Clinical practice. Diabetic gastroparesis. *N Engl J Med* 2007; 356: 820-829 [PMID: 17314341 DOI: 10.1056/NEJMcp062614]
- 11 Schlüter U, Smit JW, Wipkink-Bakker A, Masclee AA. [Diabetic gastroparesis: is tube feeding an alternative?]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997; 141: 2425-2428 [PMID: 9555125]
- 12 Fraser RJ, Horowitz M, Maddox AF, Harding PE, Chatterton BE, Dent J. Hyperglycaemia slows gastric emptying in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 675-780 [DOI: 10.1007/BF00400569]
- 13 Jones KL, Kong MF, Berry MK, Rayner CK, Adamson U, Horowitz M. The effect of erythromycin on gastric emptying is modified by physiological changes in the blood glucose concentration. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2074-2079 [PMID: 10445530 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01280.x]
- 14 Rayner CK, Su YC, Doran SM, Jones KL, Malbert CH, Horowitz M. The stimulation of antral motility by erythromycin is attenuated by hyperglycemia. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2233-2241 [PMID: 11007223 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02250.x]
- 15 Mansi C, Borro P, Giacomini M, Biagini R, Mele MR, Pandolfo N, Savarino V. Comparative effects of levosulpiride and cisapride on gastric emptying and symptoms in patients with functional dyspepsia and gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 561-569 [PMID: 10792119 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00742.x]
- 16 Mearin F, Rodrigo L, Pérez-Mota A, Balboa A, Jiménez I, Sebastián JJ, Patón C. Levosulpiride and cisapride in the treatment of dysmotility-like functional dyspepsia: a randomized, double-masked tri-

- al. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 301-308 [PMID: 15067624 DOI: 10.1016/S1542-3565(04)00059-X]
- 17 Holtmann G, Talley NJ, Liebrechts T, Adam B, Parow C. A placebo-controlled trial of itopride in functional dyspepsia. *N Engl J Med* 2006; 354: 832-840 [PMID: 16495395 DOI: 10.1056/NEJMoa052639]
 - 18 Sturm A, Holtmann G, Goebell H, Gerken G. Prokinetics in patients with gastroparesis: a systematic analysis. *Digestion* 1999; 60: 422-427 [PMID: 10473966 DOI: 10.1159/000007687]
 - 19 DiBaise JK, Quigley EM. Efficacy of prolonged administration of intravenous erythromycin in an ambulatory setting as treatment of severe gastroparesis: one center's experience. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28: 131-134 [PMID: 10078820 DOI: 10.1097/0004836-199903000-00009]
 - 20 Talley NJ, Verlinden M, Snape W, Beker JA, Ducrotte P, Dettmer A, Brinkhoff H, Eaker E, Ohning G, Miner PB, Mathias JR, Fumagalli I, Staessen D, Mack RJ. Failure of a motilin receptor agonist (ABT-229) to relieve the symptoms of functional dyspepsia in patients with and without delayed gastric emptying: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1653-1661 [PMID: 11121915 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00868.x]
 - 21 Talley NJ, Verlinden M, Geenen DJ, Hogan RB, Riff D, McCallum RW, Mack RJ. Effects of a motilin receptor agonist (ABT-229) on upper gastrointestinal symptoms in type 1 diabetes mellitus: a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Gut* 2001; 49: 395-401 [PMID: 11511562 DOI: 10.1136/gut.49.3.395]
 - 22 Russo A, Stevens JE, Giles N, Krause G, O'Donovan DG, Horowitz M, Jones KL. Effect of the motilin agonist KC 11458 on gastric emptying in diabetic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 333-338 [PMID: 15274670 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02066.x]
 - 23 McCallum RW, Cynshi O. Efficacy of mitemincal, a motilin agonist, on gastrointestinal symptoms in patients with symptoms suggesting diabetic gastropathy: a randomized, multi-center, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 107-116 [PMID: 17555427 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03346.x]
 - 24 Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-4261 [PMID: 11089560 DOI: 10.1210/en.141.11.4255]
 - 25 Fukuda H, Mizuta Y, Isomoto H, Takeshima F, Ohnita K, Ohba K, Omagari K, Taniyama K, Kohno S. Ghrelin enhances gastric motility through direct stimulation of intrinsic neural pathways and capsaicin-sensitive afferent neurones in rats. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 1209-1214 [PMID: 15742997 DOI: 10.1080/00365520410007908]
 - 26 Binn M, Albert C, Gougeon A, Maerki H, Coulie B, Lemoyne M, Rabasa Lhoret R, Tomasetto C, Poitras P. Ghrelin gastrodukinetic action in patients with neurogenic gastroparesis. *Peptides* 2006; 27: 1603-1606 [PMID: 16426704 DOI: 10.1016/j.peptides.2005.12.008]
 - 27 Murray CD, Martin NM, Patterson M, Taylor SA, Ghatei MA, Kamm MA, Johnston C, Bloom SR, Emmanuel AV. Ghrelin enhances gastric emptying in diabetic gastroparesis: a double blind, placebo controlled, crossover study. *Gut* 2005; 54: 1693-1698 [PMID: 16085693 DOI: 10.1136/gut.2005.069088]
 - 28 Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Verbeke K, Janssens J, Peeters T. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 847-853 [PMID: 16225494 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02658.x]
 - 29 Vestergaard ET, Hansen TK, Gormsen LC, Jakobsen P, Moller N, Christiansen JS, Jorgensen JO. Constant intravenous ghrelin infusion in healthy young men: clinical pharmacokinetics and metabolic effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1829-E1836 [PMID: 17311892 DOI: 10.1152/ajpendo.00682.2006]
 - 30 Fraser GL, Hoveyda HR, Tannenbaum GS. Pharmacological demarcation of the growth hormone, gut motility and feeding effects of ghrelin using a novel ghrelin receptor agonist. *Endocrinology* 2008; 149: 6280-6288 [PMID: 18719021 DOI: 10.1210/en.2008-0804]
 - 31 Wo JM, Ejskjaer N, Hellström PM, Malik RA, Pezzullo JC, Shaughnessy L, Charlton P, Kosutic G, McCallum RW. Randomised clinical trial: ghrelin agonist TZP-101 relieves gastroparesis associated with severe nausea and vomiting--randomised clinical study subset data. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 679-688 [PMID: 21214610 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04567.x]
 - 32 Thompson DS. Mirtazapine for the treatment of depression and nausea in breast and gynecological oncology. *Psychosomatics* 2000; 41: 356-359 [PMID: 10906359 DOI: 10.1176/appi.psy.41.4.356]
 - 33 Theobald DE, Kirsh KL, Holtsclaw E, Donaghy K, Passik SD. An open-label, crossover trial of mirtazapine (15 and 30 mg) in cancer patients with pain and other distressing symptoms. *J Pain Symptom Manage* 2002; 23: 442-447 [PMID: 12007762 DOI: 10.1016/S0885-3924(02)00381-0]
 - 34 Guclu S, Gol M, Dogan E, Saygili U. Mirtazapine use in resistant hyperemesis gravidarum: report of three cases and review of the literature. *Arch Gynecol Obstet* 2005; 272: 298-300 [PMID: 16007504 DOI: 10.1007/s00404-005-0007-0]
 - 35 Teixeira FV, Novaretti TM, Pilon B, Pereira PG, Breda MF. Mirtazapine (Remeron) as treatment for non-mechanical vomiting after gastric bypass. *Obes Surg* 2005; 15: 707-709 [PMID: 15946465 DOI: 10.1381/0960892053923923]
 - 36 Kim SW, Shin IS, Kim JM, Kang HC, Mun JU, Yang SJ, Yoon JS. Mirtazapine for severe gastroparesis unresponsive to conventional prokinetic treatment. *Psychosomatics* 2006; 47: 440-442 [PMID: 16959934 DOI: 10.1176/appi.psy.47.5.440]
 - 37 Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, Feyer P, Clark-Snow R, Koeller JM, Morrow GR, Chinnery LW, Chesney MJ, Gralla RJ, Grunberg SM. American Society of Clinical Oncology guideline for antiemetics in oncology: update 2006. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2932-2947 [PMID: 16717289 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.9591]
 - 38 National comprehensive cancer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Antiemesis, V.2.2009.2008. Available from: URL: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/antiemesis.pdf

■应用要点

本文为临床医师治疗重度胃轻瘫提供了一定的参考依据。

■同行评价

本文系统阐述了基础治疗、药物治疗以及其他方式治疗重度胃轻瘫的研究进展,并对重度胃轻瘫治疗方式的研究方向进行了展望。

- 39 Chong K, Dhatriya K. A case of severe, refractory diabetic gastroparesis managed by prolonged use of aprepitant. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5: 285-288 [PMID: 19444262 DOI: 10.1038/nrendo.2009.50]
- 40 Madsen JL, Fuglsang S. A randomized, placebo-controlled, crossover, double-blind trial of the NK1 receptor antagonist aprepitant on gastrointestinal motor function in healthy humans. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 609-615 [PMID: 18208572 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03618.x]
- 41 Lin Z, Forster J, Sarosiek I, McCallum RW. Treatment of gastroparesis with electrical stimulation. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 837-848 [PMID: 12772777 DOI: 10.1023/A:1023099206939]
- 42 Zhang J, Chen JD. Systematic review: applications and future of gastric electrical stimulation. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 991-1002 [PMID: 16984493 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03087.x]
- 43 Kelly KA, La Force RC. Pacing the canine stomach with electric stimulation. *Am J Physiol* 1972; 222: 588-594 [PMID: 5022667]
- 44 Familoni BO, Abell TL, Voeller G, Salem A, Gaber O. Electrical stimulation at a frequency higher than basal rate in human stomach. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 885-891 [PMID: 9149038 DOI: 10.1023/A:1018852011857]
- 45 Kashyap P, Farrugia G. Diabetic gastroparesis: what we have learned and had to unlearn in the past 5 years. *Gut* 2010; 59: 1716-1726 [PMID: 20871131 DOI: 10.1136/gut.2009.199703]
- 46 Ejksjaer NT, Bradley JL, Buxton-Thomas MS, Edmonds ME, Howard ER, Purewal T, Thomas PK, Watkins PJ. Novel surgical treatment and gastric pathology in diabetic gastroparesis. *Diabet Med* 1999; 16: 488-495 [PMID: 10391397 DOI: 10.1046/j.1464-5491.1999.00086.x]
- 47 Abell TL, Van Cutsem E, Abrahamsson H, Huizinga JD, Konturek JW, Galmiche JP, Voeller G, Filez L, Everts B, Waterfall WE, Domschke W, Bruley des Varannes S, Familoni BO, Bourgeois IM, Janssens J, Tougas G. Gastric electrical stimulation in intractable symptomatic gastroparesis. *Digestion* 2002; 66: 204-212 [PMID: 12592096 DOI: 10.1159/000068359]
- 48 McKenna D, Beverstein G, Reichelderfer M, Gaumnitz E, Gould J. Gastric electrical stimulation is an effective and safe treatment for medically refractory gastroparesis. *Surgery* 2008; 144: 566-572; discussion 572-574 [PMID: 18847640 DOI: 10.1016/j.surg.2008.06.024]
- 49 Lin Z, Sarosiek I, Forster J, Ross RA, Chen JD, McCallum RW. Two-channel gastric pacing in patients with diabetic gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 912-e396 [PMID: 21806741 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01754.x]
- 50 Chu H, Lin Z, Zhong L, McCallum RW, Hou X. Treatment of high-frequency gastric electrical stimulation for gastroparesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1017-1026 [PMID: 22128901 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06999.x]
- 51 Lin Z, Forster J, Sarosiek I, McCallum RW. Treatment of diabetic gastroparesis by high-frequency gastric electrical stimulation. *Diabetes Care* 2004; 27: 1071-1076 [PMID: 15111523 DOI: 10.2337/diacare.27.5.1071]
- 52 Lin Z, McElhinney C, Sarosiek I, Forster J, McCallum R. Chronic gastric electrical stimulation for gastroparesis reduces the use of prokinetic and/or antiemetic medications and the need for hospitalizations. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1328-1334 [PMID: 16047482 DOI: 10.1007/s10620-005-2782-7]
- 53 Yiannopoulos A, Shafazand S, Ziedalski T, Berry GJ, Robbins RC, Theodore J, Faul JL. Gastric pacing for severe gastroparesis in a heart-lung transplant recipient. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23: 371-374 [PMID: 15019648 DOI: 10.1016/s1053-2498(03)00188-8]
- 54 Forster J, Sarosiek I, Delcore R, Lin Z, Raju GS, McCallum RW. Gastric pacing is a new surgical treatment for gastroparesis. *Am J Surg* 2001; 182: 676-681 [PMID: 11839337 DOI: 10.1016/S0002-9610(01)00802-9]
- 55 Mason RJ, Lipham J, Eckerling G, Schwartz A, De-meester TR. Gastric electrical stimulation: an alternative surgical therapy for patients with gastroparesis. *Arch Surg* 2005; 140: 841-846; discussion 841-846 [PMID: 16172292 DOI: 10.1001/archsurg.140.9.841]
- 56 Ayinala S, Batista O, Goyal A, Al-Juburi A, Abidi N, Familoni B, Abell T. Temporary gastric electrical stimulation with orally or PEG-placed electrodes in patients with drug refractory gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 455-461 [PMID: 15758925 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)00076-3]
- 57 Intagliata N, Koch KL. Gastroparesis in type 2 diabetes mellitus: prevalence, etiology, diagnosis, and treatment. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 270-279 [PMID: 17883973 DOI: 10.1007/s11894-007-0030-3]
- 58 Malagelada JR, Rees WD, Mazzotta LJ, Go VL. Gastric motor abnormalities in diabetic and post-vagotomy gastroparesis: effect of metoclopramide and bethanechol. *Gastroenterology* 1980; 78: 286-293 [PMID: 7350052]
- 59 Camilleri M, Brown ML, Malagelada JR. Relationship between impaired gastric emptying and abnormal gastrointestinal motility. *Gastroenterology* 1986; 91: 94-99 [PMID: 3710086]
- 60 Mearin F, Camilleri M, Malagelada JR. Pyloric dysfunction in diabetics with recurrent nausea and vomiting. *Gastroenterology* 1986; 90: 1919-1925 [PMID: 3699409]
- 61 Jankovic J, Brin MF. Therapeutic uses of botulinum toxin. *N Engl J Med* 1991; 324: 1186-1194 [PMID: 2011163 DOI: 10.1056/NEJM199104253241707]
- 62 Schiavo G, Shone CC, Rossetto O, Alexander FC, Montecucco C. Botulinum neurotoxin serotype F is a zinc endopeptidase specific for VAMP/synaptobrevin. *J Biol Chem* 1993; 268: 11516-11519 [PMID: 8505288]
- 63 刘庆森. 内镜下注射A型肉毒毒素治疗贲门失弛缓症的研究. 中国人民解放军军医进修学院, 2004
- 64 Ezzeddine D, Jit R, Katz N, Gopalswamy N, Bhutani MS. Pyloric injection of botulinum toxin for treatment of diabetic gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 920-923 [PMID: 12024156 DOI: 10.1067/mge.2002.124739]
- 65 Miller LS, Szych GA, Kantor SB, Bromer MQ, Knight LC, Maurer AH, Fisher RS, Parkman HP. Treatment of idiopathic gastroparesis with injection of botulinum toxin into the pyloric sphincter muscle. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1653-1660 [PMID: 12135014 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05823.x]
- 66 Bromer MQ, Friedenberg F, Miller LS, Fisher RS, Swartz K, Parkman HP. Endoscopic pyloric injection of botulinum toxin A for the treatment of refractory gastroparesis. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 833-839 [PMID: 15933684 DOI: 10.1016/

- S0016-5107(05)00328-7]
- 67 张全义, 高宏凯, 张新国. 糖尿病胃轻瘫的发病机制及治疗新进展. 医学研究杂志 2008; 37: 24-25
- 68 Watkins PJ, Buxton-Thomas MS, Howard ER. Long-term outcome after gastrectomy for intractable diabetic gastroparesis. *Diabet Med* 2003; 20: 58-63 [PMID: 12519321 DOI: 10.1046/j.1464-5491.2003.00872.x]
- 69 周强, 刘超, 李修洋, 全小林. 全小林治疗糖尿病胃轻瘫验案. 北京中医药 2010; 2: 137-138
- 70 魏玉玲, 李豫川. 枳术丸治疗糖尿病胃轻瘫. 中国实用神经疾病杂志 2009; 12: 92-93
- 71 黄颖秋. 胃轻瘫综合征的中医药治疗. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1167-1168

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义

唐 劼, 卢 洁, 闫惠平

■背景资料

自身免疫性肝病是除病毒性肝炎以外的引起肝功能障碍和肝硬化的常见原因之一。血清学自身抗体检测在自身免疫性肝病的诊断、鉴别诊断、疾病预测以及预后判断等方面有重要的应用价值。

唐劼, 卢洁, 北京欧蒙生物技术有限公司 北京市 100101
闫惠平, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心 北京市 100069

唐劼, 主要从事免疫性肝病方面的研究。

首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 首发2011-2018-05
作者贡献分布: 本文综述由唐劼、卢洁及闫惠平共同完成; 所作贡献均等。

通讯作者: 闫惠平, 教授, 博士研究生导师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院感染与免疫研究中心. yhp503@126.com
电话: 010-63291531

收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-07-02

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-08

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune hepatitis; Primary biliary cirrhosis; Autoantibody

Tang J, Lu J, Yan HP. Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

Diagnostic and predictive significance of autoantibody profiles in autoimmune liver disease

Jie Tang, Jie Lu, Hui-Ping Yan

Jie Tang, Jie Lu, Euroimmun Medical Diagnostics Co., Ltd., Beijing 100101, China

Hui-Ping Yan, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: the Capital Health Research and Development of Special, No. 2011-2018-05

Correspondence to: Hui-Ping Yan, Professor, Research Centre for Infection and Immunity, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, 8 Youan Menwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. yhp503@126.com

Received: 2013-05-14 Revised: 2013-07-02

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-08

Abstract

Autoimmune liver disease (AILD) is a chronic inflammatory disease presumably induced by a disorder of immune homeostasis within the liver, which can lead to damage to or loss of the hepatic parenchyma or bile duct epithelia. Indirect immunofluorescence and antibody specificity assays are important tools for the diagnosis of AILD. Over the last decade, there have been an increasing number of newly characterized target antigens for autoantibodies in AILD. Autoantibodies, as biomarkers, are used not only for disease diagnosis, but also for monitoring disease activity and progression and predicting prognosis and treatment responses.

摘要

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是一组因为肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症, 是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。利用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)和抗原特异性检测方法, 进行自身抗体的筛查和确认, 是AILD病因学诊断的重要方法。新的靶抗原的发现和鉴定丰富了AILD自身抗体谱的组成, 也拓展了自身抗体检测的临床应用范围。作为生物标记物, 自身抗体的临床意义不仅体现在自身免疫性疾病的诊断上, 在反映疾病活动性和严重程度、评价病情演进过程、疗效监测和预后判断等方面也发挥着越来越重要的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 自身抗体

核心提示: 在自身免疫疾病的发展过程中, 自身抗体的组成和强度都处于变化之中。我们在丰富检测项目的同时, 也要关注时间因素对检测结果的影响。

唐劼, 卢洁, 闫惠平. 自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测和临床意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21(25): 2544-2550 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2544.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2544>

0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease,

■同行评议者
台桂香, 教授, 吉林省长春市吉林大学

AILD)是一组肝脏免疫耐受机制失衡引起的肝细胞或胆管上皮细胞的慢性损伤性炎症,是肝硬化和肝功能障碍的常见原因之一。AILD主要包括,以肝实质细胞进行性损伤为主的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)^[1]、胆道系统受累的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)以及原发性硬化型胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)^[2]。

在致病机制尚不明确的情况下,临床医生需要对血清学检测、组织活检、影像学证据和临床背景资料综合评价,同时还要排除病毒性肝炎、药物毒性以及某些代谢性疾病(如Wilson's disease等)后,才能做出正确的诊断。随着肝病免疫学的深入研究,特别是自身抗体及相应靶抗原的发现和鉴定,自身抗体的检测已经成为AILD诊断以及鉴别诊断的重要工具。

作为生物标记物,自身抗体的临床意义不仅体现在疾病诊断上,某些自身抗体在反映疾病活动度、监测病程、评价疗效和预后判断等方面,也是重要的参考指标^[3]。系统性和器官特异性自身免疫疾病(autoimmune disease, AID)的回顾性调查(血清库)和前瞻性研究(随访)均表明,与特定疾病关联的自身抗体在患者有明显临床症状候群出现数月或数年前已经产生,自身抗体可以作为自身免疫疾病的“预警”因子,基于这一事实,在易感人群或疑似患者中开展自身抗体谱的筛查是很有必要的^[4]。

本文主要对AILD相关自身抗体谱的检测方法、组成和临床意义作一较为系统的回顾,旨在强调运用多种抗体指标联合检测的方法,来获取更丰富更全面的信息,为AILD的诊治提供科学依据。另外,对AILD血清学检测临床实践中的常见问题和可能的解决方法,谈一谈作者粗浅的认识。

1 应用间接免疫荧光法筛查AILD相关自身抗体谱

常规筛查AILD自身抗体的方法是间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)。根据2004年国际自身免疫性肝炎协会(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)血清学检测委员会提出的AIH自身抗体检测指南,大鼠的肝、肾、胃组织切片组合作为抗体筛查的首选基质^[5]。利用这3种基质可以同时检测抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)、抗肝-肾微粒体-1抗体(anti-liver kidney microsome-1, anti-

LKM-1)、抗线粒体抗体(anti-mitochondria antibody, AMA)、抗肝细胞胞浆抗体(anti-liver cytosol, anti-LC1)。滴定之前,血清样本的初始稀释倍数分别是,成人1:40;对儿童而言,检测SMA、ANA为1:20, anti-LKM-1为1:10^[5]。实际上,临床标本的检测可能依据不同厂家试剂的要求来决定其初始稀释倍数。

ANA可以较容易在3种基质上鉴别出来。在鼠肝上可以呈现不同的荧光模型,核均质是AIH的典型荧光模型,而核颗粒型不常见。HEp-2细胞是检测ANA的标准基质,但血清样本在较低稀释倍数(1:40)的情况下,健康人群中ANA呈阳性的概率很高,所以在阳性结果的判读上需要谨慎,最好与特异性ANA自身抗体谱检测方法相结合。然而,对于疑似PBC或AIH-PBC重叠综合征的患者,在HEp-2细胞上可能出现PBC特异性的多核点型和核膜型荧光模型,前者与抗核小体抗体相对应,后者的靶抗原是核孔复合物蛋白^[6]。

SMA阳性血清使大鼠肝、肾和胃的动脉血管壁着色。在鼠肾基质上,血管(vessels, V)、肾小球(glomeruli, G)或肾小管(tubules, T)都可以呈现能够加以甄别的荧光模型。与单独出现血管阳性反应相比,血管与肾小球“双阳”和血管、肾小球和肾小管“三阳”对AIH的特异性更高,其中VGT荧光模型最支持AIH-1型的诊断。SMA在鼠肾基质上的VGT荧光模型与在成纤维细胞上的“微丝”荧光反应关联程度很高,两者可视为抗纤维肌动蛋白抗体(anti-F-actin)阳性。近年来,采用大鼠胚胎胸主动脉的细胞系,即血管平滑肌47作为IIF检测基质,与传统基质鼠肝-肾-胃相比,检测SMA的敏感度略低,但特异性相当,且更容易识别anti-F-actin,这种新的基质正在得到广泛的应用^[7]。

Anti-LKM-1以肝细胞胞浆和肾近端小管P3段强荧光染色为特点。在IIF荧光片的判读上,因为anti-LKM-1和AMA在肝脏和肾都呈阳性反应,所以容易混淆,两者的主要区别在于anti-LKM-1的主要抗原分布在肾脏的近端小管,而AMA使富集线粒体的远端肾小管呈现强荧光反应;在鼠胃基质上,AMA使胃黏膜壁细胞呈颗粒型荧光,而anti-LKM-1对壁细胞无反应;在鼠肝组织切片上,AMA表现的肝细胞胞浆荧光强度明显弱于anti-LKM-1。所以,综合肝、肾、胃3种基质的荧光特点应该能够比较准确的区分anti-LKM-1和AMA。虽然HEp-2细胞也能够用来识

■ 研发前沿

在过去的十几年里,自身免疫血清学诊断技术取得了跨越式的发展,如何选择合适的检测方法,运用恰当的检测策略,科学合理的分析和解读多参数检测指标,并服务于临床诊疗实践,是对检验科医师和临床医生的一种挑战,也是循证医学领域的研究热点。

■相关报道

国内有关自身免疫性肝病的研究报道近年来呈上升趋势,内容多集中在发病机制的探索和血清学标记物的临床应用方面。

别AMA,但是在HEp-2细胞上AMA阳性与肝-肾-胃3种基质的判读结果并不总是一致,与特异性的AMA-M2检测结果也可能出现偏差,因而单独使用HEp-2检测AMA不可取。

Anti-LC1使肝细胞胞浆染色,荧光呈带状分布,静脉周围的肝细胞荧光染色最为明显,此外,肾小管也可以出现阳性反应。anti-LC1可以单独存在,但是通常与anti-LKM-1并存,在这种情况下,辨认anti-LC1将会比较困难。此时,抗原特异性检测对于准确鉴定anti-LKM-1和anti-LC1显得尤为重要。

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)在乙醇固定的中性粒细胞上的荧光模型有2种表现形式,胞浆型的c-ANCA和核周染色的p-ANCA。对于AIH和PSC患者,ANCA是一种非典型p-ANCA,与经典的p-ANCA存在明显区别。在甲醛固定的中性粒细胞上,非典型p-ANCA仍能保持核周染色,而与系统性血管炎相关的p-ANCA则转变成c-ANCA荧光模型。这类非典型p-ANCA作用的靶抗原位于核膜,也称作核周型抗中性粒细胞核抗体(perinuclear anti-neutrophil nuclear antibodies, p-ANNA),在AIH-1型患者中的阳性率为50%-96%,而绝大多数AIH-2型患者为阴性。除了AIH外,p-ANNA在PSC(60%-92%)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)(60%-87%)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)(5%-25%)也有很高的检出率。

2 AILD相关抗原特异性自身抗体谱组成

2.1 抗核抗体 目前,还没有发现AIH特异性的ANA表达谱。在AIH患者血清中,ANA的抗原谱包括,中心体、组蛋白、dsDNA、染色质、核蛋白体复合物,其中,抗染色质抗体与典型IIF核均质荧光模型相对应。与AIH不同,PBC相关ANA抗体谱的研究已经取得了很大进展。大约50%PBC患者ANA检测呈阳性结果,在AMA阴性PBC患者中的阳性比率可达85%^[8]。目前发现的靶抗原位于细胞核内的Sp100、Sp140、早幼粒白血病蛋白(promyelocytic leukemia protein, PML)和小泛素样修饰蛋白(small ubiquitin-like modifier, SUMO),与多核点荧光模型相对应;核孔复合物(nuclear pore complex, NPC)蛋白gp210、p62(62 kDa nucleoporin)、核纤层蛋白B受体(lamin B receptor, LBR)等,表现为核膜型荧光。Janka等^[9]对PBC患者中抗核小体复合物抗

体的研究表明,anti-Sp100和anti-PML在PBC患者的阳性率分别达到30%和20%,anti-SUMO-1和-2在前两者检测阳性的血清中的检出率分别为15%和42%。在PBC并发尿路感染患者中,有74%的个体血清学检测anti-Sp100呈阳性,而无尿路感染的PBC患者的阳性率仅有4.8%,这种现象提示了某些感染因素可以诱发PBC相关自身抗体的产生^[10]。新近发现的自身抗原Sp140与Sp100、PML同为核小体复合物的组成成份,anti-Sp140在PBC患者的阳性率约为15%,与抗Sp100和PML抗体存在明显的共存关系^[11]。Anti-gp210在PBC患者中的阳性率在10%-25%之间,anti-LBR约为1%,但是两者是PBC高度特异性的标记物(特异性均超过95%)。Bauer等^[12]报道,使用gp210羧基端15个氨基酸肽段作为靶抗原检测anti-gp210,对PBC的特异性达到99%。与anti-gp210在PBC患者中较低的检出率(10%)相比,p62(55%)可能更有优势^[13]。

2.2 抗平滑肌抗体 SMA可以识别包括微管、中间丝和微丝在内的多种细胞骨架成分。F-actin属于微丝的一种,是AIH相关荧光模型针对的主要靶抗原。F-actin-ELISA与IIF检测结果一致率较高,但不完全吻合^[7]。根据IIF典型“anti-actin”荧光模型诊断AIH,仍然是能够获得最佳特异性和敏感度的检测方法^[5]。

2.3 抗肝-肾微粒体-1抗体 Anti-LKM-1的靶抗原是微粒体中的细胞色素P450 II D6(CYP2D6),该抗原的确认,推动了基于CYP2D6重组抗原ELISA方法的建立,这对于鉴别IIF不易区分的AMA与anti-LKM-1两种荧光模型发挥了重要作用。Anti-LKM-1能够识别CYP2D6196-218、CYP2D6254-271和CYP2D6321-351 3个线性表位,这3个线性表位也是免疫优势表位,CYP2D6构象表位位于羧基端部^[14]。在某些HCV感染者中,IIF检测结果为anti-LKM-1阳性,ELISA却呈阴性,这可能是由于ELISA方法本身的局限性,检测不到某些识别CYP2D6构象表位的anti-LKM-1。

2.4 抗肝细胞胞浆抗体 亚胺甲基转移酶环化脱氨酶(formimino-transferase cyclodeaminase, FTCD)已经作为抗原来检测anti-LC1,用于AIH-2型的诊断^[15]。

2.5 抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体 虽然抗可溶性肝抗原/抗肝-胰抗体(anti-soluble liver antigen/anti-liver pancreas, anti-SLA/LP)和抗去唾液酸糖蛋白受体抗体

(anti-asialoglycoprotein receptor, anti-ASGPR)是AIH相关抗体,但目前采用IIF方法检测不到,只能通过ELISA或免疫印迹法来进行检测. Anti-SLA/LP与tRNP(Ser)Sec(一种硒代半胱氨酸合成酶)特异性结合,是AIH-1型特异性抗体,通常与ANA、SMA共存,但是在少数情况下, anti-SLA/LP可以单独阳性,这时其诊断意义显得尤为重要. 新近的研究表明,约58%的AIH患者产生SLA特异性的以CD4⁺ T细胞为主的细胞免疫应答,而且该免疫反应在anti-SLA/LP阳性患者中的强度显著高于anti-SLA/LP阴性者,这类自身反应性T细胞与肝脏的损伤存在紧密的关联^[6]. 此外,在SLA/LP分子上的免疫优势片段与Rickettsia spp. 表面抗原PS120的局部肽段之间存在高度的同源性,而且这两个肽段都可能与HLA-DRB1*03:01结合,这提示分子拟态机制在anti-SLA/LP产生中的作用^[17]. Anti-ASGPR的靶抗原是ASGPR(去唾液酸糖蛋白受体),早期的研究报道约90% AIH患者此种抗体检测呈阳性,可以与ANA、SMA和anti-LKM-1共存^[18]. 但anti-ASGPR的特异性不高,在病毒性肝炎、药物诱导的肝损害、PBC等疾病中也可以检测到.

2.6 抗线粒体抗体 AMA是PBC特异性抗体,阳性率在90%-95%之间. 根据靶抗原的不同,AMA分为9个亚类,即M1-M9,其中,与PBC紧密相关的是M2、M4、M8和M9. M2抗原位于线粒体内膜,而M4、M8、M9抗原在线粒体外膜分布^[19]. AMA-M2与PBC的关联度最高,也是特异性和敏感度最强的诊断指标,他与2-氧酸脱氢酶复合物(2-oxo-acid dehydrogenase complex, 2-OADC)家族的E2亚基硫辛酸结构域结合. 已经鉴定的2-OADC-E2包括丙酮酸脱氢酶复合物E2亚基(pyruvate dehydrogenase complex E2, PDC-E2)、支链2-氧酸脱氢酶复合物E2亚基(branched-chain 2-oxo-acid dehydrogenase complex E2, BCOACD-E2)和2-氧戊二酸脱氢酶复合物E2亚基(2-oxo glutarate dehydrogenase complex E2, OGDC-E2). 运用表位描记和基因重组技术,将PDC-E2、BCOACD-E2、OGDC-E2的免疫优势表位融合,构建成融合蛋白MIT3,用ELISA方法检测血清中的AMA,比IIF和PDC-E2-ELISA具有更高的特异性和敏感性^[20]. 最近, Dähnrich等^[21]用MIT3与纯化的天然PDC混合物检测AMA抗体,与单独使用MIT3或PDC为抗原的ELISA方法或传统的IIF相比,表现出更高的灵敏度.

2.7 非典型p-ANCA TBB5可能是IBD和PSC的

非典型p-ANCA作用的重要靶点,但是TBB5-ELISA检测相应抗体时,对PSC与其他AILD疾病的鉴别能力低于预期^[22].

3 自身抗体检测对AILD的诊断价值

自身抗体检测是AILD诊断的必要血清学检查项目,也是AILD与其他临床症状体征相似的慢性肝脏疾病鉴别诊断的重要依据. 然而,自身抗体检测阳性本身并不能作为AILD的确诊依据,必须结合临床背景资料和诊断标准,进行综合评价,才能做出客观正确的诊断.

对于临床表现、血清生化指标或组织学证据提示AILD的个体,ANA、SMA、anti-LKM-1、AMA和p-ANCA应该是主要的检测指标. 另外,在这5项检测结果为阴性时,进行anti-LC1、anti-SLA/LP和anti-ASGPR的检测,对AIH诊断的评分结果可能有帮助^[23]. 在AIH-1型患者中,ANA和/或SMA阳性者占大多数,这两项为阴性的个体中约有5%的个体anti-SLA/LP检测可能为阳性^[24]. 在有较为典型临床表现的AIH-2型患者中,anti-LKM-1和/或anti-LC1阳性者占到90%以上^[23]. PBC患者中AMA阴性者约占5%^[25], IIF在HEp-2细胞上可以呈“多核点”或“核膜型”荧光模型,需要进一步检测PBC特异性的ANA抗体,anti-Sp100、anti-PML和anti-gp210可作为首选的考察指标.

作为诊断参考依据的自身抗体检测在用于临床诊断时,以下几点需要引起我们的注意. (1) 由于抗体滴度在某些疾病演进过程中可能会出现变化,所以不能凭借单次检测的阴性结果排除AILD,应该在合理时间间隔内进行多次检测,分析其变化的趋势和特点; (2) 自身免疫病是免疫耐受机制失衡引起的异常免疫应答,是一种系统性疾病,在发病个体通常表现为多种自身抗体并存的情形,自身抗体表达谱的检测对于反映疾病的真实面貌是合理的选择,也是自身抗体血清学检测的发展趋势; (3) 对于IIF筛查结果呈阳性者,应该作相应的抗原特异性的检测来确认,例如采用ELISA或免疫印迹法,根据抗体谱的表达特点,对疾病活动度、免疫治疗效果和预后做出判断; (4) 由于目前AILD的发病机制不清楚,肝脏的免疫损伤机制涉及复杂的细胞免疫和体液免疫在遗传易感个体中的交互作用,自身抗体是病理损伤的结果还是原因尚无定论,所以自身抗体检测只能作为AILD诊断的参考依据^[26].

■创新盘点

本文旨在通过系统的介绍自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测方法和临床应用价值,让读者对这一领域的现状和问题有较为全面的了解.

■应用要点

自身免疫性肝病自身抗体检测方法需要根据患者的具体情况作出合理的选择,一份科学合理的检测结果报告需要临床医生和检验科医师的沟通和配合。

4 自身抗体对疾病的预测价值

某些自身免疫性疾病,在出现典型的临床症状之前几年甚至数年,相关自身抗体就已经存在,而且某些特异性抗体与疾病之间存在紧密的病因连锁关系,对这些自身抗体的检测对于疾病的预测以及早期诊断和治疗都有重要的指导意义。自身抗体的预测价值主要体现在对自身免疫疾病发病、病情严重程度、疾病演进过程、免疫抑制治疗效果、特定临床表现等方面的预测上。因此,具有疾病预测意义的自身抗体检测,有助于自身免疫疾病的早期发现和早期治疗,这对延缓疾病的进展以及预防严重并发症的发生有重要作用。

4.1 自身免疫性肝炎 一项对99例AIH-1患者的研究表明, anti-actin阳性个体与发病年龄较年轻,免疫抑制治疗效果不佳以及肝功能衰竭有显著的关联,这说明了anti-actin作为血清学筛查指标,除了可以提高AIH诊断的敏感性,对疾病预后也有一定的预测价值^[27]。此外, anti-dsDNA、anti-AS-GPR、anti-SLA/LP和anti-LC1与较严重的病情、高复发率、免疫抑制治疗效果不佳等有关^[28-31]。

4.2 原发性胆汁性肝硬化 对于无症状的且ALP正常的个体, AMA检测同样也是诊断PBC的关键指标。在AMA阳性但是没有胆汁淤积症状患者中,已经出现PBC组织病理改变的比例可达40%,其余个体在随访中发生PBC的风险明显增大^[32]。ALP升高、高滴度AMA-M2和-M4可能是PBC呈急性发展的风险因子^[33]。AMA-IgG3阳性患者发生肝硬化的可能性增大,而且AMA-IgG3滴度与梅奥风险评分(Mayo risk score, MRS)风险指数呈正相关^[34]。国内学者发现, AMA阳性PBC患者如果配合以MRS和血清IgG水平的检测,对疾病预后可以做出更加准确的判断^[35]。由此可见,在慢性肝病患者中开展AMA的筛查,对于PBC的早期诊断,尽早使用UDCA预防PBC或延缓病情很有意义。

PBC相关ANA中, anti-gp210的疾病预测功能得到了多项研究的支持。Anti-gp210可以作为独立风险因子,与PBC发展成为终末期肝功能衰竭密切相关^[36], anti-gp210滴度变化的测定可用来监测UDCA治疗效果和评估PBC预后^[37]。Nakamura等^[38]对276例PBC确诊患者的PBC相关抗体表达与病情演进方式相关性的研究表明, anti-gp210与肝功能衰竭高度相关,抗中心体抗体(anti-centromere antibody, ACA)的存在提示发生门脉高压的风险。

5 AILD血清学检测中的问题

5.1 IIF初筛与抗原特异性检测 根据IAIHG的建议, ELISA应该作为IIF的补充,而不能替代IIF,两种方法各有其优势,也有其局限性,所以检测结果不能直接进行比较^[5]。由于IIF技术本身的限制性,如IIF检验结果需要训练有素的专业人员判读,难以实现自动化,检测过程费时费力、通量低等,现在的大型医院更多依赖ELISA、多指标免疫印迹等操作便捷、自动化程度高的检测方法。然而,利用特异性检测方法在获得比较满意的敏感度时,特异性因为使用不同供应商的产品而有很大的差别,而这种问题很少在使用鼠肝-肾-胃为标准基质的IIF上发生。因此在自身抗体检测的方法和流程选择方面,目前仍然推荐在IIF筛查的基础上,作特异性检测进行确认;而对出现典型临床表现的疑似AILD患者,即使IIF检测结果为阴性,也有必要作AILD相关特异性自身抗体谱的检测,以提高诊断的准确性。

5.2 自身抗体检测结果的判读 具有诊断和预测价值的新的靶抗原不断被发现,丰富了AILD自身抗体谱的组成,同时也对检测结果的判读带来了新的挑战。(1)不同抗体自身的检验特性。传统的特异性检测指标的敏感度很高,但特异性较低,而大多数新的特异性自身抗体具有很高的特异性,而敏感度较低;(2)不同抗体的临床意义不同。传统的抗体在疾病诊断方面依然是主要的标记物,然而其预测价值往往不及新的指标;(3)血清学诊断结果与临床表现不符者的判读。在两者不符情况下,考虑到抗体的疾病预测功能,对于自身抗体检测阳性的个体,定期监测并适时进行药物干预不失为明智之举。

5.3 自身抗体检测的标准化问题 在过去的十几年中,抗原特异性检测方法在临床实验室中得到了广泛的应用,但是在检测结果的判读上普遍缺乏统一的标准和严格的质控程序(quality assurance program, QAP)。完整的质控(quality assurance, QA)体系需要产品供应商、正式的半官方机构(如卫生部临床检验中心)和检验医/技师共同参与完成。首先,产品在推向市场之前,供应商必需完成室内QA和注册,同时也是QAP的参与者;其次,美国的病理学院(The College of American Pathologist, CAP)、英国的质量评估系统(A National External Quality Assessment Service, NEQAS)、德国的国标(Institute für Standardisierung, INSTAND)定期举行AMA、anti-LKM-1、SMA的“室间”QAP,已经吸引越

来越多的实验室参与,以验证不同方法学 and 不同产品的检测效能;最后,作为血清学检测“终端用户”的临床医师和检验医/技师,必需熟悉检测项目的适应症、内容和意义,各种检测方法的优缺点,结合临床背景对检测结果进行判读^[39]。由于通过多参数检测技术可以获得一组检测指标的数据,以往“点对点”的线性分析方法已经无法满足临床应用的需要,建立新的便捷高效的多参数分析方法已经势在必行。

6 结论

AILD相关自身抗体谱,在疾病演进过程中,在种类和强度两个方面不断的发生变化,这就要求我们在不断丰富检测项目的同时,也要关注疾病动态变化对检测结果的影响。在今后的研究中,不同抗体组合与疾病特质的关联性,以及在疾病发展过程中,抗体表达谱的变化,将是循证医学研究的重点。我们希望通过这样的研究,为防治自身免疫疾病提供科学依据。

7 参考文献

- 1 Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 54-66 [PMID: 16394302 DOI: 10.1056/NEJMra050408]
- 2 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267 [PMID: 19501929 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.04.009]
- 3 Roep BO, Buckner J, Sawcer S, Toes R, Zipp F. The problems and promises of research into human immunology and autoimmune disease. *Nat Med* 2012; 18: 48-53 [PMID: 22227672 DOI: 10.1038/nm.2626]
- 4 Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-1533 [PMID: 14561795 DOI: 10.1056/NEJMoa021933]
- 5 Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cançado EL, Mackay IR, Manns MP, Nishioka M, Penner E. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol* 2004; 41: 677-683 [PMID: 15464251 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.002]
- 6 Yang Z, Liang Y, Qin B, Li C, Zhong R. Clinical significance of conventional serum autoantibodies for various liver diseases in a Chinese population. *Clin Biochem* 2012; 45: 203-206 [PMID: 21933666 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.08.1146]
- 7 Villalta D, Bizzaro N, Da Re M, Tozzoli R, Komorowski L, Tonutti E. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. *Autoimmunity* 2008; 41: 105-110 [PMID: 18176872 DOI: 10.1080/08916930701619896]
- 8 Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, Rodrigo L, Linares A, Fuentes D, Bianchi FB. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 431-437 [PMID: 12591064 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07257.x]
- 9 Janka C, Selmi C, Gershwin ME, Will H, Sternsdorf T. Small ubiquitin-related modifiers: A novel and independent class of autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 609-616 [PMID: 15726652 DOI: 10.1002/hep.20619]
- 10 Bogdanos DP, Baum H, Butler P, Rigopoulou EI, Davies ET, Ma Y, Burroughs AK, Vergani D. Association between the primary biliary cirrhosis specific anti-sp100 antibodies and recurrent urinary tract infection. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 801-805 [PMID: 14674671 DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00466-3]
- 11 Granito A, Yang WH, Muratori L, Lim MJ, Nakajima A, Ferri S, Pappas G, Quarneti C, Bianchi FB, Bloch DB, Muratori P. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 125-131 [PMID: 19861957 DOI: 10.1038/ajg.2009.596]
- 12 Bauer A, Habior A. Measurement of gp210 autoantibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal* 2007; 21: 227-231 [PMID: 17621358 DOI: 10.1002/jcla.20170]
- 13 Wesierska-Gadek J, Klima A, Komina O, Ranftler C, Invernizzi P, Penner E. Characterization of autoantibodies against components of the nuclear pore complexes: high frequency of anti-p62 nucleoporin antibodies. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1109: 519-530 [PMID: 17785341 DOI: 10.1196/annals.1398.058]
- 14 Ma Y, Thomas MG, Okamoto M, Bogdanos DP, Nagl S, Kerkar N, Lopes AR, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB, Mieli-Vergani G, Vergani D. Key residues of a major cytochrome P4502D6 epitope are located on the surface of the molecule. *J Immunol* 2002; 169: 277-285 [PMID: 12077255]
- 15 Muratori L, Sztul E, Muratori P, Gao Y, Ripalti A, Ponti C, Lenzi M, Landini MP, Bianchi FB. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology* 2001; 34: 494-501 [PMID: 11526534 DOI: 10.1053/jhep.2001.27179]
- 16 Zhao Y, Zhang Y, Liu YM, Liu Y, Feng X, Liao HY, Vergani D, Ma Y, Yan HP. Identification of T cell epitopes on soluble liver antigen in Chinese patients with auto-immune hepatitis. *Liver Int* 2011; 31: 721-729 [PMID: 21457445 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02487.x]
- 17 Paiardini A, Pascarella S. Structural mimicry between SLA/LP and Rickettsia surface antigens as a driver of autoimmune hepatitis: insights from an in silico study. *Theor Biol Med Model* 2013; 10: 25 [PMID: 23575112 DOI: 10.1186/1742-4682-10-25]
- 18 Strassburg CP, Manns MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002; 22: 339-352 [PMID: 12447706 DOI: 10.1055/s-2002-35704]
- 19 Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3616-3629 [PMID: 20677333 DOI: 10.3748/wjg.v16.i29.3616]
- 20 Gabeta S, Norman GL, Liaskos C, Papamichalis PA, Zografos T, Garagounis A, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Diagnostic relevance and clinical significance of the new enhanced performance M2 (MIT3) ELI-

■同行评价

本文对自身免疫性肝病的自身抗原谱进行了综述,并对自身抗体的临床应用价值进行了分析和讨论,尤其提出了疾病的预测价值,对于临床检测有指导意义。

- SA for the detection of IgA and IgG antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol* 2007; 27: 378-387 [PMID: 17514501 DOI: 10.1007/s10875-007-9092-0]
- 21 Dähnrich C, Pares A, Caballeria L, Rosemann A, Schlumberger W, Probst C, Mytilinaiou M, Bogdanos D, Vergani D, Stöcker W, Komorowski L. New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clin Chem* 2009; 55: 978-985 [PMID: 19264849 DOI: 10.1373/clinchem.2008.118299]
 - 22 Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology* 2000; 119: 310-322 [PMID: 10930366 DOI: 10.1053/gast.2000.9366]
 - 23 Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Edleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Büschenfelde KH, Zeniya M. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938 [PMID: 10580593 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80297-9]
 - 24 Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3374-3387 [PMID: 18528935 DOI: 10.3748/wjg.14.3374]
 - 25 Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 1261-1273 [PMID: 16177252 DOI: 10.1056/NEJMra043898]
 - 26 Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Sack U. Autoantibody diagnostics in clinical practice. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 207-211 [PMID: 21621008 DOI: 10.1016/j.autrev.2011.05.014]
 - 27 Czaja AJ, Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Bianchi FB. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1996; 24: 1068-1073 [PMID: 8903377 DOI: 10.1002/hep.510240515]
 - 28 Czaja AJ, Morshed SA, Parveen S, Nishioka M. Antibodies to single-stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1-autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 567-572 [PMID: 9303484 DOI: 10.1002/hep.510260306]
 - 29 Czaja AJ, Pfeifer KD, Decker RH, Vallari AS. Frequency and significance of antibodies to asialoglycoprotein receptor in type 1 autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1733-1740 [PMID: 8794787 DOI: 10.1007/BF02088738]
 - 30 Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, Underhill J, Dürr R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology* 2002; 35: 658-664 [PMID: 11870381 DOI: 10.1053/jhep.2002.32092]
 - 31 McFarlane IG, Hegarty JE, McSorley CG, McFarlane BM, Williams R. Antibodies to liver-specific protein predict outcome of treatment withdrawal in autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet* 1984; 2: 954-956 [PMID: 6149344 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91167-X]
 - 32 Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OF. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut* 2004; 53: 865-870 [PMID: 15138215 DOI: 10.1136/gut.2003.023937]
 - 33 Flisiak R, Pelszynska M, Prokopowicz D, Rogalska M, Grygoruk U. High concentration of antimitochondrial antibodies predicts progressive primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5706-5709 [PMID: 16237770]
 - 34 Rigopoulou EI, Davies ET, Bogdanos DP, Liaskos C, Mytilinaiou M, Koukoulis GK, Dalekos GN, Vergani D. Antimitochondrial antibodies of immunoglobulin G3 subclass are associated with a more severe disease course in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2007; 27: 1226-1231 [PMID: 17919234 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01586.x]
 - 35 Zhao DT, Liao HY, Liu YM, Zhao Y, Feng X, Yan HP. Prognostic factors and survival analysis of antimitochondrial antibody-positive primary biliary cirrhosis in Chinese patients. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2750-2757 [PMID: 21409375 DOI: 10.1007/s10620-011-1661-7]
 - 36 Wesierska-Gadek J, Penner E, Battezzati PM, Selmi C, Zuin M, Hitchman E, Worman HJ, Gershwin ME, Podda M, Invernizzi P. Correlation of initial autoantibody profile and clinical outcome in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 1135-1144 [PMID: 16628641 DOI: 10.1002/hep.21172]
 - 37 Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, Daikoku M, Yano K, Matsumoto T, Migita K, Yatsuhashi H, Ito M, Masaki N, Adachi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Saoshiro T, Sodeyama T, Koga M, Shimoda S, Ishibashi H. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2005; 42: 386-392 [PMID: 15710222 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.11.016]
 - 38 Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, Takii Y, Koyabu M, Yokoyama T, Migita K, Daikoku M, Abiru S, Yatsuhashi H, Takezaki E, Masaki N, Sugi K, Honda K, Adachi H, Nishi H, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Komatsu T, Saito A, Saoshiro T, Harada H, Sodeyama T, Hayashi S, Masumoto A, Sando T, Yamamoto T, Sakai H, Kobayashi M, Muro T, Koga M, Shums Z, Norman GL, Ishibashi H. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 118-127 [PMID: 17187436 DOI: 10.1002/hep.21472]
 - 39 李金明. 我国临床分子诊断质量管理和标准化的现状、问题和对策. *临床检验杂志* 2012; 30: 742-745

编辑 田滢 电编 鲁亚静



食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展

谭全会, 李兴华

谭全会, 李兴华, 江苏大学附属上海市第八人民医院 上海市 200235

谭全会, 主要从事胃肠动力学的研究.

作者贡献分布: 本综述由谭全会撰写; 李兴华审校.

通讯作者: 谭全会, 200235, 上海市徐汇区漕宝路8号, 江苏大学附属上海市第八人民医院. tanquanhui@sina.cn

电话: 021-34284588-3020

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-08

接受日期: 2013-07-15 在线出版日期: 2013-09-08

Progress in understanding the relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li

Quan-Hui Tan, Xing-Hua Li, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, Shanghai 200235, China

Correspondence to: Quan-Hui Tan, the Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital of Jiangsu University, 8 Cao-bao Road, Xuhui District, Shanghai 200235, China. tanquanhui@sina.cn

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-08

Accepted: 2013-07-15 Published online: 2013-09-08

Abstract

Functional gastrointestinal disorders (FGIDs) are a group of conditions characterized by the presence of chronic or recurrent gastrointestinal symptoms. Currently, the exact pathogenesis of FGIDs is still unknown, and their diagnosis relies on the exclusion of organic diseases. A number of studies have found that food intolerances can induce FGIDs and therefore has important implications for the diagnosis and treatment of FGIDs. In this paper, we review the recent progress in understanding the relationship between FGIDs and food intolerances in terms of pathogenesis, diagnosis, treatment, detection, and relationship between food intolerance and other diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Functional gastrointestinal disorders; Food intolerance; Specific IgG antibodies

Tan QH, Li XH. Progress in understanding the

relationship between food intolerance and functional gastrointestinal disorders. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(25): 2551-2556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2551.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2551>

摘要

功能性胃肠病是一组表现为慢性或反复发作性的胃肠道综合征, 需经检查排除器质性疾病方可确诊, 但其确切的发病机制仍不清楚. 目前多项研究发现食物不耐受可以诱发功能性胃肠病, 且与功能性胃肠病的诊治有密切关系. 食物不耐受是一组由特异性IgG抗体介导的复杂的免疫反应. 本文在国内外研究的基础上, 从食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制、诊断、检测、治疗及与其他疾病的关系等方面, 分析了食物不耐受与功能性胃肠病关系的研究进展. 但到目前为止, 仍然无法彻底地阐述食物不耐受是如何对功能性胃肠病产生影响的, 这一机制有待进一步深入研究.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 功能性胃肠病; 食物不耐受; 特异性IgG抗体

核心提示: 国内外多项研究表明, 食物不耐受对功能性胃肠病的发病机制有密切的关系, 食物不耐受与多种疾病有关系, 通过食物不耐受的检测, 可以改善功能性胃肠病的一些症状, 甚至治愈一些功能性胃肠病, 但是食物不耐受影响功能性胃肠病的机制仍然不清楚, 有待进一步研究.

谭全会, 李兴华. 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2551-2556 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2551.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2551>

0 引言

到目前为止, 虽然医学界对功能性胃肠疾病 (functional gastrointestinal disorders, FGIDs) 的发病机制有一定的研究成果, 如: 动力障碍、内脏高敏、菌群紊乱等, 但是还无法彻底地解释清楚其发病机制, 同时还缺乏有效的诊疗方法, 故

■背景资料

目前功能性胃肠病发病率呈现逐年上升的趋势, 有关功能性胃肠病的发病机制目前仍然不能得到明确的答案, 其诊断和治疗也还存在局限, 没有研究出有效的诊断和治疗方法, 这一问题亟待解决, 国内外越来越多的研究报道表明, 食物不耐受在一定程度上影响着功能性胃肠病, 食物不耐受对功能性胃肠病的发病和诊治有很大程度的影响, 故可以根据这些理论, 探讨食物不耐受影响功能性胃肠病的机制.

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■相关报道

Spanier等的研究表明许多因诊断不明而被归为“功能性”的疾病实际都是由食物过敏所致;国内有研究报道表明食物特异性IgG4抗体指导的限制性饮食可以改善肠易激综合征症状和直肠顺应性。

给患者带来一定的痛苦和不便。食物不耐受是指人们食入某些食物后,机体免疫系统产生复杂的变态反应,产生食物特异性IgG抗体,这些抗体与食物消化颗粒形成免疫复合物,免疫复合物沉积于机体的各个部位,进而引起各个系统的症状。近几年,越来越多的国内外研究表明,食物不耐受与功能性胃肠病的发病机制及诊治有一定程度的关系,但是对功能性胃肠病产生影响的具体机制仍然没有研究清楚,所以其与功能性胃肠病的关系一直存有争议。本文从国内外对两者的研究现状出发,对FGIDs的发病机制以及其与食物不耐受的关系等方面作了综述。

1 FGIDs概述

FGIDs是指具有慢性及反复性消化系症状,但缺少解剖、生化和病理学变化依据的临床症候群,主要表现为腹痛、腹胀、恶心、早饱、呕吐、腹泻及排便困难等。国外报道本病在普通人群的患病率为34.6%,就诊率为62.11%^[1]。FGIDs是消化界近年来研究的热点和难点,由于此类疾病发病逐年率高,病因不甚清楚,发病机制研究困难,治疗方面目前长期有效或治愈性药物甚少,因此给患者的工作和生活带来严重影响,同时导致社会医疗费用大量浪费。

结合国内外文献,目前主要在以下几个方面对功能性胃肠病的发病机制进行了研究。

1.1 胃肠动力异常 多项研究表明,功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)患者有近端胃的适应性调节异常、胃排空延迟、胃肠的生理电节律障碍等。闻淑军等^[2]通过对实验组肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的研究,发现IBS患者有结肠反应异常和结肠运动障碍。

1.2 内脏敏感性增高 功能性胃肠病发生的病理生理机制有多种,内脏敏感性增高为其中之一。目前关于内脏敏感增高的机制主要包括:(1)一些功能性胃肠病的患者可以感受一些异常的生理刺激,引起一系列消化系症状,而这些生理刺激对正常的人来说是无法感知的;(2)对机体受到的“伤害”反应超敏,比如对疼痛的反应,特别是对一些与慢性疼痛或反复发作疼痛有关的疾病,如慢性腹痛、食管源性胸痛、功能性腹痛综合征等,都与内脏感觉超常有密切的关系^[3]。

1.3 炎症与肠内菌群紊乱 有研究显示,约17%的FD和7%-32%的IBS患者有胃肠道感染史,炎症消退机制存在缺陷可能是感染后胃肠性疾病的主要原因。一方面,炎症的持续存在不仅可以增

加内脏敏感性,还可能导致患者Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal pacemaker cells, ICC)形态的改变以及神经肽含量或其免疫反应神经元数量的增加等,这些改变与患者症状的产生有密切关系^[4]。另一方面,一些IBS患者肠内细菌过度生长,通过改变白介素10(interleukin-10, IL-10)与IL-12的比例,导致局部炎症细胞因子增加,从而引起IBS。

1.4 脑-肠轴调解异常 胃肠道的神经系统由中枢神经、自主神经和肠神经共同组成。他们从不同层次把胃肠道与中枢神经系统结合起来。机体通过对脑-肠轴的调解,可以起到调解胃肠道的功能,这种调解方式称为脑-肠互动^[5]。这种调控不仅精细而且复杂,但是如果其中任何一个环节出现障碍,都有可能引起胃肠功能或结构的损害,进而导致疾病的产生。

1.5 心理社会因素 有研究表明,FGIDs患者中42%-61%伴有心理障碍^[6],相对于其他器质性疾病和正常人群明显偏高。虽然心理社会因素不是诊断功能性胃肠病的必须条件,但是他却影响患者对疾病的自身感受、心理和情绪等,且对临床效果产生一定程度的影响,有研究FGIDs患者心理社会因素特征的学者得出以下3个结论^[7]:(1)心理应激导致胃肠道症状加重;(2)心理紊乱导致疾病体验和疾病行为的改变;(3)FGIDs有相应的心理社会后果。

2 食物不耐受

食物不耐受最早的系统性阐述是由英国的Frances Hare医生在1905年提出的,Frances Hare^[8]在临床工作中发现,很多疾病,如心绞痛、痛风、湿疹等疾病都和患者摄入的食物有关,特别是一些慢性的疾病,患者摄入某种或某些食物后会导致某些症状加重,但是,如果让患者停止摄入该种食物后,该患者的症状明显改善,有的甚至症状消失。这是有关食物不耐受最早的发现和描述。

2.1 食物不耐受的基本概念及发病机制 食物不耐受是一种变态反应性疾病,其过程极其复杂。目前大多学者认为,食物不耐受是人们食入某些物质后,人体的免疫系统把其当作对机体有害物质,为了保护机体免受损害,而对其产生保护性免疫反应;而且反应程度超常,通过免疫反应,机体产生相应抗体,医学把这种抗体称为特异性IgG抗体。IgG抗体通过抗原抗体反应与食物颗粒形成循环免疫复合物,循环免疫复合物

随着血液循环可以沉积于全身各个器官或系统, 如心血管系统、泌尿系统、呼吸系统、消化系统、皮肤等. 如果循环免疫复合物沉积于消化系统, 可累及从口腔至肛门的所有消化器官, 常见症状为腹胀、消化不良、腹泻、腹痛等, 而且这些疾病常因缺乏有效检测方法而延误诊断^[9-11], 导致其病情迁反复. 目前研究证实, 许多因诊断不明而被归类为“功能性”的疾病实际都是由食物过敏所致^[12-14].

目前多项研究表明, 食物不耐受可重复发生, 他是人体免疫系统对特定的食物或食物的特定成分产生的一些不良反应, 这些反应产生的机制并不明确, 目前有关食物不耐受发生机制的研究可归纳如下: (1)免疫反应; (2)酶缺乏; (3)药理作用; (4)激惹反应; (5)毒理反应; (6)其他因素^[15]. 另外, 食物不耐受并不是由于一些常见的致病, 如细菌、真菌、化学毒物、食物中毒性反应以及某种心理反应等引起的. 目前大家公认食物不耐受是存在的, 而且其对患者所造成的结果是需要慎重考虑的^[16].

2.1.1 与食物过敏的区别: 目前临床上认为食物过敏分为速发和迟发两种. 速发型食物过敏反应由免疫球蛋白IgE介导, 大多学者认为其是由天然的蛋白质或其消化产物引起的, 这种反应发生速度很快, 摄入食物几分钟就可以发生; 有的通过皮肤接触后就可发生, 表现为恶心、呕吐、腹泻、腹痛、发热、皮疹等症状, 其本质就是抗原抗体反应介导的快发性超敏反应. 迟发型的食物过敏反应是由细胞介导的迟发性超敏反应. 目前认为食物不耐受主要是由免疫球蛋白IgG介导的迟发性超敏反应, 他一般不会即刻发生过敏反应, 有较长的潜伏期, 潜伏期为几个小时至几年甚至几十年不等, 引起的临床表现也多样, 有的终身不会发病, 有的在很多年以后才发病, 有的在再次摄入某些事物后会导致症状加重, 但大多都为慢性疾病的表现. 徐文斌等^[17]通过将某些IBS组与健康对照组的比较, 发现两组实验对象的血清中食物特异性IgG抗体和IgE抗体总阳性率比较有显著差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$). 韩立芬等^[18]认为食物不耐受的发病机制复杂, 其产生的抗体即食物特异性IgG抗体可以和sIgE抗体同时存在, 但是由于两者的作用介质相同, 所以导致症状相似.

2.1.2 发病机制: 目前关于食物不耐受发生机制的研究有多种说法, 如免疫反应过激、抗原抗体反应等, 但是并没有一个完整的定论. 多数认

为食物不耐受跟某些疾病有一定程度的关系, 但是具体机制并没有完全研究清楚. 目前德国科学家Fooker博士对食物不耐受的发病机制的论述观点得到广泛认可^[19]. 其观点为: 当患者摄入不耐受的食物后, 机体的免疫系统对进入体内的某些食物或者是食物消化后的某些化学物质产生保护性免疫反应, 机体甚至有时候把摄入的食物当成有害物质, 对其产生超常的免疫反应, 继而在患者血清里有相应的食物特异性IgG抗体产生, IgG抗体可以随着血液循环到达机体的各个器官, 引起相关临床症状.

2.2 食物不耐受与相关疾病 食物不耐受与多种疾病有关, 累及人体各个系统.

2.2.1 食物不耐受与皮炎: 在敏感的人群中, 摄入相关的食物, 可以激发由IgE介导的速发型过敏反应的所有症状, 可累及从口腔到皮肤几乎所有的器官, 累及皮肤时可表现为风疹、红斑、血管神经型水肿等, 同时也可以引起由IgG介导的迟发型过敏反应, 迟发型过敏反应有较长的潜伏期, 有的可无临床症状, 有的可以引起重症皮疹等, 如果再次摄入相关食物, 可以引起急性症状如急性风疹, 或使原有的症状加重. 此外, 食物过敏也可以通过皮肤直接接触引起, 比如一些亲脂性的食物过敏源可以通过皮肤的毛囊或受损的皮肤屏障侵入引起过敏症状.

2.2.2 食物不耐受与慢性荨麻疹: 徐文斌等^[20]一项研究表明, 慢性荨麻疹患者血清中IgG抗体水平相对于对照组显著升高, 对慢性荨麻疹患者禁食相关食物, 大部分患者的临床症状显著改善, 故食物不耐受可能与慢性荨麻疹发病有关. 至于食物不耐受与慢性荨麻疹发病的相关机制目前尚不清楚, 有待进一步研究.

2.2.3 食物不耐受与过敏性紫癜: 过敏性紫癜是一种临床上常见的毛细血管及细小血管炎, 病因复杂, 如感染、药物等. 彭丽等^[21]研究发现过敏性紫癜患儿的血清中食物不耐受血清特异性IgG水平是健康对照组的3倍多, 通过实验组和对照组采用相同的抗过敏治疗, 同时再对实验组进行食物不耐受检测阳性的食物剔除, 发现实验组的患儿临床症状有一定程度的缓解, 而且可以防止疾病的反复发作, 对过敏性紫癜有积极的预防作用.

2.2.4 食物不耐受与儿童慢性腹痛: 近年来, 越来越多的研究表明, 儿童慢性腹痛和食物不耐受有关, 李玉华等^[22]通过酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法

■创新盘点

本文针对食物不耐受与功能性胃肠病的关系这一研究领域, 收集了大量国内外文献资料, 就国内外在该领域的主要研究成果、最新进展、研究动态、前沿问题等进行综合分析而写成的, 能比较全面的反应历史背景、前人工作、争论焦点、研究现状和发展前景等.

■应用要点

本文对食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制和诊治提出问题,为食物不耐受和功能性胃肠病的发病机制的进一步研究提供一定的理论基础,对功能性胃肠病诊断和治疗的研究也提出了一种思路。

表 1 食物不耐受等级分类表

程度分级	IgG浓度(U/mL)	敏感度
0	0-50	阴性
+1	50-100	轻度敏感
+2	100-200	中度敏感
+3	>200	高度敏感

对68例慢性腹痛的儿童进行食物不耐受的检测,发现其食物不耐受的阳性率竟然达到了98.5%,其中阳性率最高的为牛奶和鸡蛋,另外还发现,鲑鱼、西红柿不耐受程度在女性患儿明显高于男性,说明食物不耐受还可能有性别差异。通过不耐受食物剔除或轮替疗法,大部分患儿腹痛的症状可以得到明显改善。这一研究结果表明,对于慢性腹痛的患儿应该检测食物不耐受,以明确不耐受物质,从而制定合理的饮食计划,提高患儿生活质量。

2.2.5 食物不耐受与其他慢性疾病:有些研究认为,不耐受食物与偏头痛^[23-27]、哮喘^[28-31]以及乳糖不耐受等有关^[32-36],还有研究认为,食物过敏原特异性IgG抗体测定对IBS的机制的研究以及治疗很有意义^[37-44],另外某些慢性肝炎、肝硬化的患者也应考虑食物不耐受^[45]。

3 食物不耐受和功能性胃肠病发病机制的关系

由于食物不耐受发生在消化系时可以累及整个消化系几乎所有的消化器官,所以引起的症状多。另外,这些临床症状的表现程度亦不同,又没有器质性病变,临床诊断困难,所以导致疾病不能得到及时治疗,容易致病情迁延反复,目前将其多归为功能性胃肠病。

功能性胃肠病患者血清中IgG水平显著升高,剔除某些不耐受食物后,症状减轻或消失,且患者血清里IgG水平明显降低。当再次摄入某些不耐受食物后,患者的临床症状加重,并伴随着血清中IgG水平升高。这一发现是饮食干预疗法的理论依据,即通过患者血清中IgG水平的监测,对一些功能性胃肠病患者限制不耐受食物的摄入,从而改善患者临床症状,达到治愈的目的。如董江婷^[46]通过对60例IBS患者进行饮食干预,剔除阳性结果的食物12 wk后,66.7%症状明显改善,21.6%症状有改善,6.7%无效。从这个实验的研究数据我们可以看出,大部分的IBS病人可以通过饮食干预获益。Gray等^[47]认为对于TH1/TH2介导的食物高敏状态,唯一可靠的治疗

方法是限制过敏性食物的摄入。

3.1 食物不耐受的检测 目前公认的口服激发试验中的双盲安慰剂对照食物激发试验是诊断食物不耐受的金标准^[48],但是由于本操作临床实际应用较为困难,且基本上无可操作性。因此,临床上很少采用这种方法。临床研究发现,食物不耐受患者的血清中IgG抗体水平显著升高^[49,50],根据这一现象,通过ELISA法检测患者血清中IgG抗体水平,从而间接地对食物不耐受进行检测。

3.2 食物不耐受检测开展项目 目前临床常用ELISA法来检测不耐受食物,包括生活中摄入频率最高的14项食物,如肉类、海鲜类、谷类、果蔬类、蛋类、菌类等。另外还可以对包括谷类及薯类、动物性食品、豆类及其制品、蔬菜水果类、纯热能食物等进行进一步的食物不耐受检测,其检测项目多达90项。根据检测得到的特异性IgG抗体浓度的不同,对检测结果进行分级,具体如表1所示。

3.3 食物不耐受检测的局限性 食物不耐受的检测有一定的局限性^[49],由于食物种类多,而ELISA检测IgG抗体的方法对食物种类的检测是有限的。目前最常检测的为生活中常见的14种食物,而不能对所有事物进行检测。另外,由于有些食物经过烹调或消化后会发生一系列的物理、化学变化,因而可能导致假阴性的发生,还有些患者血清抗体的检测结果并不和其病史相吻合,再者,检测试剂的化学变化也有可能对检测的结果产生影响。所以,目前对于食物不耐受的检测还存在很大的不足。

4 结论

目前功能性胃肠病的发病机制仍然不清楚,但是多项研究表明食物不耐受可以导致功能性胃肠病患者临床症状加重,致使患者血清中IgG抗体水平升高,借助这一现象,通过食物干预疗法,可以改善患者的大部分临床症状,但是具体的饮食方案并没有相关的研究结果。另外,目前虽然明确了食物不耐受与功能性胃肠病的产生有一定的联系,但是具体机制仍需进一步的研究。

5 参考文献

- 1 Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75: 1169-1178 [PMID: 7505205 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
- 2 闻淑军, 张志广. 功能性胃肠病. 医学综述 2006; 12: 971-973

- 3 Timmons S, Liston R, Moriarty KJ. Functional dyspepsia: motor abnormalities, sensory dysfunction, and therapeutic options. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 739-749 [PMID: 15089910 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04086.x]
- 4 刘文忠. 重视炎症在功能性胃肠病中的作用. *中华消化杂志* 2005; 25: 641-642
- 5 张莉华, 方步武. 脑肠轴及其在胃肠疾病机制中的作用. *中国中西医结合外科杂志* 2007; 13: 199-201
- 6 柯美云, 张艳丽. 重视心理因素与功能性胃肠疾病关系的研究. *诊断学理论与实践* 2006; 5: 1-2
- 7 Locke GR, Weaver AL, Melton LJ, Talley NJ. Psychosocial factors are linked to functional gastrointestinal disorders: a population based nested case-control study. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 350-357 [PMID: 15046228 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04043.x]
- 8 陈雪珍, 李红. 食物不耐受的临床研究进展. *家庭护士* 2010; 8: 906-908
- 9 Bischoff SC, Mayer JH, Manns MP. Allergy and the gut. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121: 270-283 [PMID: 10828717 DOI: 10.1159/000024340]
- 10 Crowe SE. Gastrointestinal food allergies: do they exist? *Curr Gastroenterol Rep* 2001; 3: 351-357 [PMID: 11470005 DOI: 10.1007/s11894-001-0059-7]
- 11 Read NW. Food and hypersensitivity in functional dyspepsia. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i50-i53 [PMID: 12077065 DOI: 10.1136/gut.51.suppl.1.i50]
- 12 Spanier JA, Howden CW, Jones MP. A systematic review of alternative therapies in the irritable bowel syndrome. *Arch Intern Med* 2003; 163: 265-274 [PMID: 12578506 DOI: 10.1001/archinte.163.3.265]
- 13 Semenik J, Kaczmarek M, Wasilewska J. Serum gastrin concentrations in children with primary gastroesophageal reflux and gastroesophageal reflux secondary to cow's milk allergy. *Adv Med Sci* 2011; 56: 186-192 [PMID: 22112435 DOI: 10.2478/v10039-011-0053-8]
- 14 Ikeda K, Ida S, Kawahara H, Kawamoto K, Etani Y, Kubota A. Importance of evaluating for cow's milk allergy in pediatric surgical patients with functional bowel symptoms. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2332-2335 [PMID: 22152876 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.09.028]
- 15 David TJ. Adverse reactions and intolerance to foods. *Br Med Bull* 2000; 56: 34-50 [PMID: 10885103 DOI: 10.1258/0007142001902950]
- 16 Schrandt JJ, Marcelis C, de Vries MP, van Santen-Hoeufft HM. Does food intolerance play a role in juvenile chronic arthritis? *Br J Rheumatol* 1997; 36: 905-908 [PMID: 9291861 DOI: 10.1093/rheumatology/36.8.905]
- 17 徐文斌, 祝金泉. 食物特异性IgG、IgE与肠易激综合征的研究. *江西医学院学报* 2008; 48: 68-70
- 18 韩立芬, 李晓鸾, 赵莉. 变态反应性疾病300例食物不耐受检测结果分析. *中国误诊学杂志* 2008; 8: 6702-6703
- 19 谢志贤, 刘倩. 食物不耐受与相关性疾病. *中华内科杂志* 2006; 45: 150-151
- 20 徐文斌, 周虎, 李会平. 慢性荨麻疹与食物不耐受相关性研究. *中国麻风皮肤病杂志* 2007; 23: 701
- 21 彭丽, 常桂芬, 宋丽君, 王朝霞. 过敏性紫癜患儿食物不耐受检测及其意义. *中国实验诊断学* 2011; 15: 285-287
- 22 李玉华, 项立, 肖智辉, 王慧慧. 食物不耐受与儿童慢性腹痛的相关性研究. *中国全科医学* 2012; 15: 2170-2172
- 23 Takeshima T, Ishizaki K, Fukuhara Y, Ijiri T, Kusumi M, Wakutani Y, Mori M, Kawashima M, Kowa H, Adachi Y, Urakami K, Nakashima K. Population-based door-to-door survey of migraine in Japan: the Daisen study. *Headache* 2004; 44: 8-19 [PMID: 14979878 DOI: 10.1111/j.1526-4610.2004.04004.x]
- 24 Savi L, Rainero I, Valfrè W, Gentile S, Lo Giudice R, Pinassi L. Food and headache attacks. A comparison of patients with migraine and tension-type headache. *Panminerva Med* 2002; 44: 27-31 [PMID: 11887088]
- 25 Guariso G, Bertoli S, Cernetti R, Battistella PA, Setari M, Zaccello F. [Migraine and food intolerance: a controlled study in pediatric patients]. *Pediatr Med Chir* 1993; 15: 57-61 [PMID: 8488128]
- 26 Arroyave Hernández CM, Echavarría Pinto M, Hernández Montiel HL. Food allergy mediated by IgG antibodies associated with migraine in adults. *Rev Alerg Mex* 2007; 54: 162-168 [PMID: 18693538]
- 27 Millichap JG, Yee MM. The diet factor in pediatric and adolescent migraine. *Pediatr Neurol* 2003; 28: 9-15 [PMID: 12657413 DOI: 10.1016/S0887-8994(02)00466-6]
- 28 Pacor ML, Marchi G, Cortina P, Nicolis F, Lunardi C, Corrocher R. [Food allergy and asthma]. *Recenti Prog Med* 1992; 83: 64-66 [PMID: 1502420]
- 29 赵凯妹, 成焕吉, 乔红梅, 赵芳兴, 孙明远, 付永文. 儿童哮喘IgE高亲和受体p链基因多态性分析. *临床儿科杂志* 2004; 22: 794-797
- 30 Woods RK, Abramson M, Raven JM, Bailey M, Weiner JM, Walters EH. Reported food intolerance and respiratory symptoms in young adults. *Eur Respir J* 1998; 11: 151-155 [PMID: 9543285 DOI: 10.1183/09031936.98.11010151]
- 31 罗虹. 慢性咳嗽病人的食物不耐受检测. *吉林医学* 2008; 29: 189-190
- 32 何梅. 乳糖酶缺乏和乳糖不耐受. *国外医学: 卫生学分册* 1999; 26: 339-342
- 33 杨月欣, 何梅, 崔红梅, 边丽华, 刘建宇, 程五凤, 徐浩烽, 丰维维. 中国儿童乳糖不耐受发生率的调查研究. *卫生研究* 1999; 28: 44-46
- 34 谢志贤. 食物不耐受的研究进展. *科学时报* 2006; (3): 2
- 35 黄伟, 徐齐源, 包云光. 乳糖不耐受病人服用低乳糖牛奶的疗效观察. *浙江医学* 1997; 19: 228-229
- 36 Logan AC, Wong C. Chronic fatigue syndrome: oxidative stress and dietary modifications. *Altern Med Rev* 2001; 6: 450-459 [PMID: 11703165]
- 37 张国军, 吕虹, 周亚莉, 方芳, 王雅杰, 康熙雄. 食物不耐受检测临床意义的探讨. *现代检验医学杂志* 2008; 23: 87-88
- 38 张旭东, 邓敏, 李梅. 食物不耐受与腹泻型肠易激综合征的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3877-3879
- 39 Cremonini F, Talley NJ. Diagnostic and therapeutic strategies in the irritable bowel syndrome. *Minerva Med* 2004; 95: 427-441 [PMID: 15467518]
- 40 King TS, Elia M, Hunter JO. Abnormal colonic fermentation in irritable bowel syndrome. *Lancet* 1998; 352: 1187-1189 [PMID: 9777836 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)02146-1]
- 41 Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ. Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 1459-1464 [PMID: 15361495 DOI: 10.1136/gut.2003.037697]
- 42 Whorwell P, Lea R. Dietary Treatment of the Irritable Bowel Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 307-316 [PMID: 15238206 DOI: 10.1007/s11938-004-0017-1]
- 43 Zar S, Mincher L, Benson MJ, Kumar D. Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves

同行评价

本文介绍了食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究现状,总结了目前国内外食物不耐受对功能性胃肠病机制、诊断、治疗等方面影响的研究成果,内容全面,基本可取,具有一定指导意义。

- symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 800-807 [PMID: 16109655 DOI: 10.1080/00365520510015593]
- 44 吕晶, 王怡. 饮食指导对肠易激综合征中食物不耐受的影响84例分析. *中国误诊学杂志* 2007; 11: 6624-6625
- 45 杨爽, 李清华, 吕晶. 消化系统疾病病人食物不耐受检测及饮食指导. *护理研究* 2008; 22: 1816-1817
- 46 董江婷. 食物不耐受与肠易激综合征的临床研究. 大连医科大学, 2008
- 47 Gray HC, Foy TM, Becker BA, Knutsen AP. Rice-induced enterocolitis in an infant: TH1/TH2 cellular hypersensitivity and absent IgE reactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: 601-605 [PMID: 15609772]
- 48 孙改河. 食物不耐受血清特异性IgG抗体检测在临床中的应用. *检验医学与临床* 2007; 4: 591-592
- 49 罗良学, 唐腊梅, 唐发清. 食物变态反应性疾病原因筛查. *实用预防医学* 2008; 15: 541-543
- 50 王圣霞, 周淑华, 刘凤琴. 对食物不耐受的过敏性疾病病人血清特异性IgG的检测. *中国麻风皮肤病杂志* 2007; 23: 866-867

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

CD24与结直肠癌多层次关联的研究进展

刘伊雯, 房静远

刘伊雯, 房静远, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科 上海市 200001

刘伊雯, 房静远, 上海市消化疾病研究所 上海市 200127
刘伊雯, 2010级上海交通大学医学院临床医学硕博生, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由刘伊雯完成; 房静远审校。

通讯作者: 房静远, 教授, 主任医师, 200001, 上海市黄浦区山东中路145号, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科。fangjingyuan_new@163.com

收稿日期: 2013-06-17 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-08

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: CD24; Colorectal cancer; Cancer stem cells

Liu YW, Fang JY. Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2557-2562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2557>

Advances in understanding the relationship between CD24 and colorectal cancer

Yi-Wen Liu, Jing-Yuan Fang

Yi-Wen Liu, Jing-Yuan Fang, Department of Gastroenterology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University; Shanghai Institute of Digestive Disease, Shanghai 200001, China

Correspondence to: Jing-Yuan Fang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 145 Shandongzhong Road, Huangpu District, Shanghai 200001, China. fangjingyuan_new@163.com

Received: 2013-06-17 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-08

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third cause of cancer-related morbidity and mortality in America. In China and other Asian countries, an increasingly westernized diet has led to a high incidence of CRC. There is currently an urgent demand for the discovery of novel biomarkers for CRC prognostic evaluation and molecular targeted therapies. CD24 is a mucin-like glycoprotein that is highly expressed on the surface of CRC cells. It may play a significant role in the multistep process of CRC carcinogenesis, invasion and metastasis and is correlated with therapeutic resistance and poor prognosis of CRC. As one of surface markers for potential cancer stem cells (CSCs), CD24 may be used as an ideal target for curative CRC therapy. In this review, we summarize the role of CD24 in CRC initiation, progression and metastasis. Moreover, we discuss the vital part of CD24 in CSC identification, isolation and complete CRC eradication.

摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是美国发病率和死亡率居第3位的恶性肿瘤, 随着饮食的西化, 中国等亚洲国家的CRC发病率也节节升高. 寻找一种特异的分子标记作为预后评估指标及治疗靶标是CRC个性化治疗的关键. CD24是一种在CRC中表达上调的细胞表面糖蛋白, 他在CRC的发生、浸润、黏附与转移中均起到了重要的推动作用, 并且与CRC的耐药及差预后密切相关, 此外, CD24为潜在肿瘤干细胞表面标志物, 针对CD24的靶向治疗能根除肿瘤干细胞从而达到从根本上消灭CRC的目的. 本篇综述讨论了CD24在CRC发生、发展及预后评估中作用, 回顾了CD24与CRC肿瘤干细胞的相关研究, 并进一步探究了CD24在CRC肿瘤干细胞的鉴定、分离、靶向治疗等研究中的重要意义.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: CD24; 结直肠癌; 肿瘤干细胞

核心提示: CD24在结肠癌细胞中高表达, 且参与其发生、浸润、黏附与转移, 并与差预后密切相关, 且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性, CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发, 从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭结直肠癌的目的.

刘伊雯, 房静远. CD24与结直肠癌多层次关联的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2557-2562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2557.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2557>

■背景资料

CD24是一种唾液酸糖蛋白, 被糖基磷脂酰肌醇锚定于细胞表面, 在细胞与细胞、细胞与基质的黏附中起到的重要作用, 可能参与肿瘤细胞的浸润、转移, 且与肿瘤的差预后密切相关. 此外, CD24还是众多系统肿瘤的肿瘤干细胞表面标志物.

■同行评议者

斯坎德尔·白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

■ 研发前沿

CD24在结肠癌细胞中高表达,且参与其发生、浸润、黏附与转移,并与差预后密切相关,且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性,CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发,从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭结肠癌(colorectal cancer, CRC)的目的。

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是美国发病率和死亡率居第3的恶性肿瘤^[1],随着饮食的西化,中国等亚洲国家的CRC发病率也节节升高^[2-4]。尽管早期的CRC可以行根治性手术治疗,但由于早期肿瘤患者并无特异的症状使患者发现肿瘤时往往已失去了根治性切除的机会,辅助与新辅助放化疗也是CRC综合治疗方案的重要部分,但其疗效并不尽如人意,此外,因耐药所致的CRC残余和复发也是亟待解决的问题。因此,寻找一种特异的分子标记作为预后评估指标及治疗靶标是CRC个性化治疗的关键。

CD24是一种低分子量高度糖基化的唾液酸糖蛋白,由31个氨基酸组成,被糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚定于细胞表面,具有典型的黏蛋白结构,在细胞与细胞、细胞与基质的黏附中起到重要作用^[5,6]。在正常情况下,CD24仅表达于前B淋巴细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞、角质细胞与肾小管细胞^[7-9],在造血过程的细胞选择和成熟中起到重要作用^[10,11]。在恶性肿瘤中,CD24最早报道于血液系统肿瘤,之后又陆续在实体肿瘤如非小细胞肺癌^[12]、尿路上皮癌^[13]、食道鳞癌^[14]、前列腺癌^[15]、卵巢癌^[16]、肾癌^[17]、乳腺癌^[18]、胰腺癌^[19]、胃癌等^[20]中被发现表达显著上调。研究者认为,CD24可能参与肿瘤细胞的浸润^[21]、转移^[7]且与肿瘤的差预后密切相关^[22]。此外,随着近来肿瘤干细胞研究的深入,CD24还被发现是众多系统肿瘤包括CRC的肿瘤干细胞表面标志物,在肿瘤干细胞的鉴定、分离、筛选、药物靶向等众多研究中具有重要意义^[23]。

目前,越来越多的实验证据表明,CD24在结肠癌细胞中高表达,且参与其发生、浸润、黏附与转移,并与差预后密切相关,且由于其潜在的肿瘤干细胞表面标志物特性,CD24还能作为肿瘤干细胞靶标参与抗肿瘤药物筛选与研发,从而达到根除肿瘤干细胞进而消灭CRC的目的。本文将深入阐释CD24在CRC发生、发展及预后评估中作用,并回顾CD24与CRC肿瘤干细胞的相关研究,探讨CD24在CRC肿瘤干细胞的鉴定、分离、靶向治疗等研究中的重要意义。

1 CD24参与结直肠癌肿瘤发生

CRC的发生是一个长时间、多步骤、涉及一系列的癌基因、抑癌基因、miRNA基因突变,进而导致细胞内重要调控分子功能改变的过程^[24]。

众多研究结果证实,CD24的表达改变可能是其中一环。结直肠腺瘤性息肉是CRC的癌前病变早已得到了学术界的共识^[25],有研究发现,CD24在结直肠腺瘤中的表达阳性率达90.7%,提示CD24的表达改变在CRC的发生发展中是一个比较早的事件^[26]。由于CD24为GPI锚定蛋白,并没有细胞内结构域,因此他可能作为脂筏(lipid raft,细胞膜中富含胆固醇及鞘脂的有序且致密的微结构域,可作为蛋白质停泊平台参与膜的信号转导及蛋白质转运^[27])中蛋白参与信号转导,进而参与肿瘤发生^[28]。有研究团队通过基因表达芯片发现,利用抗CD24单克隆抗体或shRNA技术敲低CD24表达能够下调Ras, MAPK及Bcl-2家族成员等的表达^[29],揭示了CD24的下游信号通路的冰山一角。另外一个研究团队的研究结果也表明CD24能激活Raf-1途径,进而激活ERK1/2及P38 MAPK途径,加快细胞系增殖^[30]。该团队的后续深入研究发现,CD24可以直接或间接作用于MAPK途径的上游调控因子Src家族的Lyn,促进其磷酸化激活及核转移,并促进其在核内激活ERK1/2,进而激活下游信号通路^[31]。另一方面,miRNA可能也参与了CD24的上下游调控网络进而参与肿瘤发生。例如,受抑癌基因p53正向调控的miR-34a能在转录后水平靶向CD24及Src的3'UTR,抑制其表达,当miR-34a被表观遗传沉默后,CD24表达上调,因此能通过激活Src进而诱导AP-1家族成员c-Jun和c-Fos上调miR-21表达,从而抑制Pdc4及PTEN等抑癌基因或转移抑制基因的表达,参与肿瘤的发生和发展^[32]。CD24的信号通路网络还有待进一步的研究完善,只有透彻的了解CD24在其上下游信号转导通路中的作用及意义才能更透彻的了解CRC发生、发展的分子机制,以更好的设计抗肿瘤方案,实现对CRC的靶向治疗。

2 CD24与结直肠癌浸润、转移及预后密切相关

以往研究者认为,CD24可能作为黏附因子P-选择素的配体参与了CRC的浸润与转移。P-选择素是一种钙离子依赖的内源性凝集素,在炎症、创伤等刺激诱导下能迅速表达于激活的血管内皮细胞及血小板表面,CD24的表达可促进P-选择素依赖的肿瘤细胞与血小板的结合^[33],形成“血小板-肿瘤栓”存在于血流中,从而保护肿瘤细胞免受机体免疫系统清除^[6,33,34]。而且,肿瘤细胞表面的CD24能与远处器官血管内皮细胞表面的P-选择素结合,使该器官实现对肿瘤细胞的

捕获从而形成肿瘤的远处转移^[35]. 近来有研究发现, CRC中 α -1,3-岩藻糖基转移酶VII的miRNA水平及蛋白表达水平平均升高, 与患者淋巴结转移及肿瘤分期密切相关, 该酶能促进CD24及路易斯寡糖X的表达, 通过增加CD24的糖基化程度促进CRC体外培养细胞系的趋化与侵袭^[36], 提示除了与P-选择素相关机制外, CD24也可能通过糖基化程度增加而参与CRC的浸润、转移.

一系列的研究证据均提示CD24参与了CRC的浸润过程, 例如, 在体外培养细胞系中敲低CD24表达后, 细胞运动能力明显减退^[29], 过表达CD24后, 细胞侵袭能力明显增加^[31]. 此外, 研究证据也表明CD24的表达与CRC预后相关. Weichert等^[37]发现, CD24在正常结直肠黏膜中不表达, 在CRC中, 胞质表达强度与较晚的肿瘤分期、淋巴结转移、全身转移及平均生存时间相关, 且在无远处转移的患者的生存分析中, 细胞质CD24表达是CRC的独立预后因素. Wang等^[30]和Su等^[31]的研究团队也发现, CD24的表达强度与CRC浸润深度、淋巴结转移、远处转移及肿瘤分期相关, 在一项74例CRC患者的生存分析中, 他们发现, CD24强表达的患者平均生存时间较短, 且CD24是CRC的独立预后因素^[31]. 以上研究结果均提示CD24的表达, 特别是细胞质表达与CRC的进展及预后密切相关. 但是也有研究团队的研究结果不支持这一观点, 例如, Choi等^[38]的研究结果显示, CD24虽然与CRC的分化及侵袭能力相关, 但与平均生存时间无显著性关系, Ahmed等^[39]的研究结果也不支持CD24与CRC患者预后相关. 因此, 为了全面、深入的了解CD24与CRC进展及预后的关系, 探讨将CD24的表达强度作为CRC预后评估指标的可能性, 扩大范围、扩大例数、多中心的系统研究还有待开展.

3 CD24是潜在的CRC肿瘤干细胞表面标志物

CD24之所以影响肿瘤的浸润、转移及预后可能与其是肿瘤干细胞表面蛋白相关. 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是肿瘤中数目极少的一个细胞亚群, 他们能自我更新并多向分化产生具有异质性的肿瘤细胞, 与肿瘤的发生、发展及复发密切相关^[40]. CSCs的来源目前仍颇受争议, 尚无确凿证据证明CSCs来源于正常组织的干细胞, 但有研究表明CSCs与Wnt、Hedgehog和Notch等信号通路相关, 吸烟、射线、活性氧等因素可致使正常干细胞积累一定量的基因突变进而发生表观遗传学改变, 从而下调上述信

号通路所涉及的基因导致肿瘤发生^[41]. 稳定的CSCs位于良性腺瘤或者恶性肿瘤分化区域的中心, 当发生上皮间充质转化时, CSCs的迁移不仅能造成病灶延伸, 而且可因其侵犯血管和淋巴管造成远处转移^[42]. 缺少特异性的标志物是目前CSCs研究面临的困难之一, 如何利用一种细胞表面标志物或几种细胞表面标志物组合来识别、分离CSCs进行进一步探究并且靶向CSCs从而达到消除这个细胞亚群进而治愈肿瘤的目的是近来研究的重点. 到目前为止, 研究者们已筛选出包括CD24、CD44、CD29、CD133、CD166等在内的一系列潜在的CSCs表面标志物^[41,43]. 2010年, Yeung等^[44]首先报道了CD24可能在CRC中也扮演着CSCs表面标志物这一角色的发现, 他们证实了SW1222、HT29等CRC细胞系中分离而来的CD24⁺CD44⁺细胞具有自我更新、多向分化及免疫缺陷小鼠上成瘤性等肿瘤干细胞特性. 随后, 另外的研究团队也发现, HT116及SW480等细胞系中分选出的CD24⁺亚群较之CD24⁻亚群有更强的形成肿瘤球的能力、自我更新能力、体外克隆形成能力及免疫缺陷小鼠上成瘤的能力, 且CD24⁺细胞能够在体内分化出CD24⁺的细胞亚群^[45], 以上研究结果均提示在CRC体外培养细胞系中, CD24⁺亚群是潜在的肿瘤干细胞.

值得一提的是, 纵然从肿瘤细胞系中分离CD24⁺CD44⁺等潜在的干细胞亚群比从肿瘤组织中分离更简单方便, 而且不仅能通过基因敲低及过表达的方法行进一步研究还能高通量的筛选单克隆抗体及抗癌药物, 但体外培养细胞系是否是获取CSCs的最佳来源存在着争议. 一方面, 不同的肿瘤类型所含的CSCs比例不同, 越是低分化的肿瘤包含的CSCs比例越高, 且不同的细胞系包含的“干性”细胞亚群比率也不同, 如何匹配细胞系及肿瘤组织中的CSCs比率以提供更好的筛选平台有待进一步研究. 另一方面, 研究者在一项系统而全面的研究中发现, 如果以形成肿瘤球、SP表型、ALDH-1活性、耐药性、免疫缺陷小鼠上的成瘤性等特性作为考量标准, 从目前常用于实验研究的10个结直肠癌细胞系中分离而来的CD133⁺、CD166⁺CD44⁺、CD24⁺CD44⁺等细胞亚群是否能体现出干细胞的特点, 在不同的细胞系中, 不同的细胞亚群有不同的结果^[46]. 研究者认为, 培养基的特殊成分、潜在的感染及微环境差异均可能导致细胞系之间及细胞系与肿瘤组织之间的差异. 失去了细胞外基质, 失去

■ 相关报道

目前国内外关于CD24与消化系统肿瘤相关的报道不少, 这些研究有的侧重于CD24在早期筛查消化系统肿瘤中的意义, 有的侧重于CD24在预测消化系统肿瘤复发中的意义, 更多的研究则是侧重于CD24在肿瘤预后中的意义.

■创新盘点

CD24是潜在的肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)表面标志物,而CSCs的存在是肿瘤细胞耐药、残余、复发和远处转移的基础,CD24不仅在CRC辅助放化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值,而且是非常有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。

了与其他非肿瘤细胞例如成肌纤维细胞的联系,失去了肿瘤组织的“多层次”结构而在体外单层排列生长,种种因素使体外培养的肿瘤细胞失去了“多样性”而趋向均一^[46]。这也提示我们用体外培养细胞系来研究、筛选CSCs甚至筛选靶向CSCs的抗癌药物可能存在局限性。总而言之,多项研究提示CRC中CD24⁺的细胞亚群具有肿瘤干细胞特性,这为CD24在CRC发生、发展、浸润、转移中所起作用的研究提供了新的思考方向,但其研究方法筛选平台有待进一步改进与开发。

4 CD24与CRC的治疗

目前唯一能治愈CRC的治疗方式为早期行根治性手术切除,对于有局部浸润和远处转移的CRC患者,辅助与新辅助放化疗效果并不理想,如何避免肿瘤的残余和复发一直困扰着临床医师与科研人员^[46]。CSCs的发现给研究者带来了新的视角与切入点,使CRC的治疗有了新的方向与靶标。

研究者发现,CRC的残余及耐药可能与CSCs相关,由于CSCs高表达ABC转运蛋白、DNA修复蛋白及ALDH-1等解毒酶,且相对于成熟肿瘤细胞而言有较慢的增殖速率,因此对放疗、化疗都有一定抵抗性,导致了肿瘤耐药的产生^[41,47]。例如,有研究报道HCT116及SW480细胞系在抗肿瘤药物处理后,耐药株中CD24⁺亚群比率较原细胞系明显增高^[45]。此外,在一项包含50例术前经新辅助放化疗的局部晚期直肠癌患者的研究中发现,切除组织标本为CD24⁺CD133⁺的患者对新辅助放化疗的敏感度明显较低^[48]。这些研究成果提示,CD24⁺肿瘤干细胞参与了CRC对放化疗的抵抗,也提示CD24等肿瘤干细胞表面标志物在预测辅助及新辅助化疗疗效中的价值。正因为CD24作为CRC肿瘤干细胞标志物在CRC中高表达,且在正常组织中几乎不表达,利用CD24作为靶标靶向CRC肿瘤干细胞,从而达到彻底消灭CRC的目的是CRC靶向治疗研究的热点,例如有研究团队利用单克隆抗体和基因敲低技术下调CD24表达能有效抑制体外培养CRC细胞系的侵袭与增殖,并能降低该种细胞在免疫缺陷小鼠上的成瘤性^[29]。此外,研究者还发现,如果给CD24的单克隆抗体“武装”上抗肿瘤基团能进一步提高其靶向治疗作用。例如,SWA11-ZZ-PE38,一种利用CD24单克隆抗体及铜绿假单胞菌外毒素衍生物PE38构建而成的免

疫毒素,既具有对CD24的靶向性,又具有PE38的诱导细胞凋亡的特性,该免疫毒素能有效诱导CRC肿瘤细胞凋亡且能有效抑制裸鼠上CD24⁺移植瘤的生长,而对正常组织无不良反应^[49],是一种非常具有前景的靶向治疗工具。此外,在其他肿瘤模型中,使用miRNA诱导CSCs向普通成熟肿瘤细胞分化使其对放化疗敏感也是颇有前景的肿瘤治疗方法^[40],其在CRC放化疗中的应用还有待开展。

5 结论

结直肠癌是发达国家的沉重医疗负担,近年来因为饮食的西化,中国CRC发病率也较以往上升。CD24是一种在CRC中高表达的唾液酸糖蛋白,他被GPI锚定于细胞表面,可能作为脂筏中的蛋白平台参与信号转导,进而参与调控细胞的生物学行为,此外CD24是P-选择素的配体,参与细胞与细胞、细胞与基质的黏附,以上两个原因使CD24在CRC发生、发展及远处转移中起到了重要作用,众多研究结果表明,细胞质中CD24的强表达与CRC患者的差预后密切相关,这提示CD24作为预后评估指标参与临床决策的可能性。随着肿瘤干细胞研究的逐渐升温,CD24被发现是潜在的CSCs表面标志物,而CSCs的存在是肿瘤细胞耐药、残余、复发和远处转移的基础,因此,CD24不仅在CRC辅助放化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值,而且也是非常具有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。作者相信,目前已报道的CD24上下游信号通路只是CD24调控网络的冰山一角,对其信号网络更加全面细致的研究是探明CD24相关的肿瘤发生机制的基础,也是开发CSCs及其信号通路靶向治疗的关键。此外,既然CD24在CRC发生中是个早期事件,且CD24的表达上调在结直肠腺瘤中已经存在,那么CD24是否可以作为CRC的早期筛查和诊断标志物投入临床应用及是否能从外周血、体液及粪便中检测到以简化筛查与诊断流程也颇具研究空间。

6 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 3 Ji BT, Devesa SS, Chow WH, Jin F, Gao YT. Colorec-

- tal cancer incidence trends by subsite in urban Shanghai, 1972-1994. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 661-666 [PMID: 9718217]
- 4 Shin HR, Won YJ, Jung KW, Park JG. 2001 annual report of the Korea Central Cancer Registry: based on registered data from 134 hospitals. *Cancer Res Treat* 2004; 36: 19-30 [PMID: 20396562 DOI: 10.4143/crt.2004.36.1.19]
 - 5 Kay R, Takei F, Humphries RK. Expression cloning of a cDNA encoding M1/69-J11d heat-stable antigens. *J Immunol* 1990; 145: 1952-1959 [PMID: 2118158]
 - 6 Kristiansen G, Sammar M, Altevogt P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule. *J Mol Histol* 2004; 35: 255-262 [PMID: 15339045 DOI: 10.1023/B:HIJO.0000032357.16261.c5]
 - 7 Baumann P, Cremers N, Kroese F, Orend G, Chiquet-Ehrismann R, Uede T, Yagita H, Sleeman JP. CD24 expression causes the acquisition of multiple cellular properties associated with tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2005; 65: 10783-10793 [PMID: 16322224 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0619]
 - 8 Li O, Zheng P, Liu Y. CD24 expression on T cells is required for optimal T cell proliferation in lymphopenic host. *J Exp Med* 2004; 200: 1083-1089 [PMID: 15477346 DOI: 10.1084/jem.20040779]
 - 9 Nielsen PJ, Lorenz B, Müller AM, Wenger RH, Brombacher F, Simon M, von der Weid T, Langhorne WJ, Mossman H, Köhler G. Altered erythrocytes and a leaky block in B-cell development in CD24/HSA-deficient mice. *Blood* 1997; 89: 1058-1067 [PMID: 9028339]
 - 10 Suzuki T, Kiyokawa N, Taguchi T, Sekino T, Katagiri YU, Fujimoto J. CD24 induces apoptosis in human B cells via the glycolipid-enriched membrane domains/rafts-mediated signaling system. *J Immunol* 2001; 166: 5567-5577 [PMID: 11313396]
 - 11 Kadmon G, von Bohlen und Halbach F, Schachner M, Altevogt P. Differential, LFA-1-sensitive effects of antibodies to nectadrin, the heat-stable antigen, on B lymphoblast aggregation and signal transduction. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198: 1209-1215 [PMID: 8117278 DOI: 10.1006/bbrc.1994.1171]
 - 12 Lee HJ, Choe G, Jheon S, Sung SW, Lee CT, Chung JH. CD24, a novel cancer biomarker, predicting disease-free survival of non-small cell lung carcinomas: a retrospective study of prognostic factor analysis from the viewpoint of forthcoming (seventh) new TNM classification. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 649-657 [PMID: 20354454]
 - 13 Choi YL, Lee SH, Kwon GY, Park CK, Han JJ, Choi JS, Choi HY, Kim SH, Shin YK. Overexpression of CD24: association with invasiveness in urothelial carcinoma of the bladder. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 275-281 [PMID: 17284113]
 - 14 Sano A, Kato H, Sakurai S, Sakai M, Tanaka N, Inose T, Saito K, Sohda M, Nakajima M, Nakajima T, Kuwano H. CD24 expression is a novel prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 506-514 [PMID: 19050962 DOI: 10.1245/s10434-008-0252-0]
 - 15 Kristiansen G, Pilarsky C, Pervan J, Stürzebecher B, Stephan C, Jung K, Loening S, Rosenthal A, Dietel M. CD24 expression is a significant predictor of PSA relapse and poor prognosis in low grade or organ confined prostate cancer. *Prostate* 2004; 58: 183-192 [PMID: 14716744 DOI: 10.1002/pros.10324]
 - 16 Surowiak P, Materna V, Kaplenko I, Spaczyński M, Dietel M, Kristiansen G, Lage H, Zabel M. Unfavorable prognostic value of CD24 expression in sections from primary and relapsed ovarian cancer tissue. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 515-521 [PMID: 16681720 DOI: 10.1111/j.1525-1438.2006.00555.x]
 - 17 Lee HJ, Kim DI, Kwak C, Ku JH, Moon KC. Expression of CD24 in clear cell renal cell carcinoma and its prognostic significance. *Urology* 2008; 72: 603-607 [PMID: 18384848 DOI: 10.1016/j.urol.2008.01.061]
 - 18 Kristiansen G, Winzer KJ, Mayordomo E, Bellach J, Schlüns K, Denkert C, Dahl E, Pilarsky C, Altevogt P, Gusk H, Dietel M. CD24 expression is a new prognostic marker in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4906-4913 [PMID: 14581365]
 - 19 Sagiv E, Kazanov D, Arber N. CD24 plays an important role in the carcinogenesis process of the pancreas. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 280-284 [PMID: 16824727 DOI: 10.1016/j.biopha.2006.06.006]
 - 20 Bektas S, Bahadır B, Ucan BH, Ozdamar SO. CD24 and galectin-1 expressions in gastric adenocarcinoma and clinicopathologic significance. *Pathol Oncol Res* 2010; 16: 569-577 [PMID: 20177845 DOI: 10.1007/s12253-010-9248-8]
 - 21 Mierke CT, Bretz N, Altevogt P. Contractile forces contribute to increased glycosylphosphatidylinositol-anchored receptor CD24-facilitated cancer cell invasion. *J Biol Chem* 2011; 286: 34858-34871 [PMID: 21828044 DOI: 10.1074/jbc.M111.245183]
 - 22 Lee JH, Kim SH, Lee ES, Kim YS. CD24 overexpression in cancer development and progression: a meta-analysis. *Oncol Rep* 2009; 22: 1149-1156 [PMID: 19787233]
 - 23 Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2144-2151 [PMID: 22981632 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.022]
 - 24 Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012; 487: 330-337 [PMID: 22810696 DOI: 10.1038/nature11252]
 - 25 Risio M. The natural history of colorectal adenomas and early cancer. *Pathologie* 2012; 33 Suppl 2: 206-210 [PMID: 22945585 DOI: 10.1007/s00292-012-1640-6]
 - 26 Sagiv E, Memeo L, Karin A, Kazanov D, Jacob-Hirsch J, Mansukhani M, Rechavi G, Hibshoosh H, Arber N. CD24 is a new oncogene, early at the multistep process of colorectal cancer carcinogenesis. *Gastroenterology* 2006; 131: 630-639 [PMID: 16890615 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.028]
 - 27 Sonnino S, Prinetti A. Membrane domains and the "lipid raft" concept. *Curr Med Chem* 2013; 20: 4-21 [PMID: 23150999]
 - 28 Baumann P, Thiele W, Cremers N, Muppala S, Krachulec J, Diefenbacher M, Kassel O, Mudduluru G, Allgayer H, Frame M, Sleeman JP. CD24 interacts with and promotes the activity of c-src within lipid rafts in breast cancer cells, thereby increasing integrin-dependent adhesion. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 435-448 [PMID: 21710320 DOI: 10.1007/s00018-011-0756-9]
 - 29 Sagiv E, Starr A, Rozovski U, Khosravi R, Altevogt P, Wang T, Arber N. Targeting CD24 for treatment of colorectal and pancreatic cancer by monoclonal antibodies or small interfering RNA. *Cancer*

■应用要点
胞质CD24强表达与CRC患者的预后密切相关, 这提示CD24作为预后评估指标参与临床决策的可能性, 此外CD24是潜在的CSCs表面标志物, 不仅在CRC辅助放化疗耐药评估及疗效预测上颇有应用价值, 而且也是非常具有前景的结直肠癌CSCs靶向治疗靶标。

同行评价

寻找某一种肿瘤特异的分子标记物无论在早期诊断、还是在预后判断及治疗靶标等方面具有重要现实意义。这篇综述对该领域的广大临床和基础研究工作者有一定的帮助。

- Res 2008; 68: 2803-2812 [PMID: 18413748 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6463]
- 30 Wang W, Wang X, Peng L, Deng Q, Liang Y, Qing H, Jiang B. CD24-dependent MAPK pathway activation is required for colorectal cancer cell proliferation. *Cancer Sci* 2010; 101: 112-119 [PMID: 19860845 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01370.x]
- 31 Su N, Peng L, Xia B, Zhao Y, Xu A, Wang J, Wang X, Jiang B. Lyn is involved in CD24-induced ERK1/2 activation in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012; 11: 43 [PMID: 22731636 DOI: 10.1186/1476-4598-11-43]
- 32 Muppala S, Mudduluru G, Leupold JH, Buergy D, Sleeman JP, Allgayer H. CD24 induces expression of the oncomir miR-21 via Src, and CD24 and Src are both post-transcriptionally downregulated by the tumor suppressor miR-34a. *PLoS One* 2013; 8: e59563 [PMID: 23533633 DOI: 10.1371/journal.pone.0059563]
- 33 Aigner S, Stthoeger ZM, Fogel M, Weber E, Zarn J, Ruppert M, Zeller Y, Vestweber D, Stahel R, Sammar M, Altevogt P. CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood* 1997; 89: 3385-3395 [PMID: 9129046]
- 34 Lim SC. CD24 and human carcinoma: tumor biological aspects. *Biomed Pharmacother* 2005; 59 Suppl 2: S351-S354 [PMID: 16507407 DOI: 10.1016/S0753-3322(05)80076-9]
- 35 Friederichs J, Zeller Y, Hafezi-Moghadam A, Gröne HJ, Ley K, Altevogt P. The CD24/P-selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000; 60: 6714-6722 [PMID: 11118057]
- 36 Li W, Zhang W, Luo J, Cao A, Zhang Y, Huang D, Sheng W, Cai S, Li J. Alpha1,3 fucosyltransferase VII plays a role in colorectal carcinoma metastases by promoting the carbonylation of glycoprotein CD24. *Oncol Rep* 2010; 23: 1609-1617 [PMID: 20428816]
- 37 Weichert W, Denkert C, Burkhardt M, Gansukh T, Bellach J, Altevogt P, Dietel M, Kristiansen G. Cytoplasmic CD24 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6574-6581 [PMID: 16166435 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0606]
- 38 Choi D, Lee HW, Hur KY, Kim JJ, Park GS, Jang SH, Song YS, Jang KS, Paik SS. Cancer stem cell markers CD133 and CD24 correlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2258-2264 [PMID: 19437567 DOI: 10.3748/wjg.15.2258]
- 39 Ahmed MA, Al-Attar A, Kim J, Watson NF, Scholefield JH, Durrant LG, Ilyas M. CD24 shows early upregulation and nuclear expression but is not a prognostic marker in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2009; 62: 1117-1122 [PMID: 19946098 DOI: 10.1136/jcp.2009.069310]
- 40 Frank NY, Schatton T, Frank MH. The therapeutic promise of the cancer stem cell concept. *J Clin Invest* 2010; 120: 41-50 [PMID: 20051635 DOI: 10.1172/JCI41004]
- 41 Jaggupilli A, Elkord E. Significance of CD44 and CD24 as cancer stem cell markers: an enduring ambiguity. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 708036 [PMID: 22693526]
- 42 Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: migrating cancer stem cells - an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 744-749 [PMID: 16148886 DOI: 10.1038/nrc1694]
- 43 Kemper K, Grandela C, Medema JP. Molecular identification and targeting of colorectal cancer stem cells. *Oncotarget* 2010; 1: 387-395 [PMID: 21311095]
- 44 Yeung TM, Gandhi SC, Wilding JL, Muschel R, Bodmer WF. Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 3722-3727 [PMID: 20133591 DOI: 10.1073/pnas.0915135107]
- 45 Ke J, Wu X, Wu X, He X, Lian L, Zou Y, He X, Wang H, Luo Y, Wang L, Lan P. A subpopulation of CD24 cells in colon cancer cell lines possess stem cell characteristics. *Neoplasia* 2012; 59: 282-288 [PMID: 22329848 DOI: 10.4149/neo_2012_036]
- 46 Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N. Colorectal cancer. *Lancet* 2010; 375: 1030-1047 [PMID: 20304247 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60353-4]
- 47 Muraro MG, Mele V, Däster S, Han J, Heberer M, Cesare Spagnoli G, Iezzi G. CD133+, CD166+CD44+, and CD24+CD44+ phenotypes fail to reliably identify cell populations with cancer stem cell functional features in established human colorectal cancer cell lines. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1: 592-603 [PMID: 23197865 DOI: 10.5966/sctm.2012-0003]
- 48 Hiroishi K, Inomata M, Kashima K, Yasuda K, Shiraishi N, Yokoyama S, Kitano S. Cancer stem cell-related factors are associated with the efficacy of pre-operative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Exp Ther Med* 2011; 2: 465-470 [PMID: 22977526]
- 49 Shapira S, Shapira A, Starr A, Kazanov D, Kraus S, Benhar I, Arber N. An immunoconjugate of anti-CD24 and Pseudomonas exotoxin selectively kills human colorectal tumors in mice. *Gastroenterology* 2011; 140: 935-946 [PMID: 21147107 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.004]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



艾灸对*Helicobacter pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量的影响

林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲

林亚平, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲, 湖南中医药大学针灸推拿学院经穴脏腑相关重点实验室 针灸生物信息分析重点实验室 湖南省长沙市 410007

封迎帅, 湖南省人民医院康复理疗科针灸室 湖南省长沙市 410005

林亚平, 主要从事针灸治病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072867

作者贡献分布: 此课题由林亚平、易受乡及彭艳设计; 研究过程由林亚平、封迎帅、彭艳、史冬梅及侯艳玲操作完成; 研究所用工具由林亚平提供; 数据分析由封迎帅、易受乡及林亚平完成; 本论文写作由封迎帅完成。

通讯作者: 林亚平, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院。

lyp5381161@126.com

电话: 0731-85381161

收稿日期: 2012-03-17 修回日期: 2013-04-10

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of moxibustion treatment on expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes of rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis

Ya-Ping Lin, Ying-Shuai Feng, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Dong-Mei Shi, Yan-Ling Hou

Ya-Ping Lin, Shou-Xiang Yi, Yan Peng, Dong-Mei Shi, Yan-Ling Hou, Key Laboratory of Correlation between Points on Meridian and Viscera & Key Laboratory of Acupuncture Biological Information Analysis, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China

Ying-Shuai Feng, Department of Rehabilitation and Physiotherapy, the People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072867

Correspondence to: Ya-Ping Lin, Professor, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. lyp5381161@126.com

Received: 2012-03-17 Revised: 2013-04-10

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To explore the effect of moxibustion treatment on gastric inflammatory injury and expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood

monocytes of rats with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-associated gastritis, to reveal the mechanisms underlying the protective effect of moxibustion treatment against gastric inflammatory injury.

METHODS: Fifty healthy rats were randomly divided into five groups, namely, a control group (A), a *H. pylori* model group (B), a moxibustion at acupoints group (C), a moxibustion at non-acupoints group (D) and an electro-acupuncture group (E). Gastritis was induced by oral gavage with live *H. pylori*. The expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes was detected by Western blot.

RESULTS: Compared to group A, gastric mucosal inflammation score and expression of NF- κ B in monocytes were significantly increased (0 ± 2.0 vs 2.5 ± 2.5 , $0.54 \pm 0.11/\beta$ -actin vs $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of I κ B α in monocytes was significantly decreased in group B ($0.21 \pm 0.03/\beta$ -actin vs $0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group B, gastric mucosal inflammation score and expression of NF- κ B in monocytes were significantly decreased (2.5 ± 2.5 vs 0 ± 2.0 , $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of I κ B α in monocytes was significantly increased in group C ($0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group D, gastric mucosal inflammation score and expression of NF- κ B in monocytes were significantly decreased (3.00 ± 2.5 vs 0 ± 2.0 , $0.36 \pm 0.12/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of I κ B α in monocytes was significantly increased in group C ($0.64 \pm 0.19/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$). Compared to group E, gastric mucosal inflammation score and expression of NF- κ B in monocytes were significantly decreased (3 ± 2.75 vs 0 ± 2.0 , $0.35 \pm 0.10/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, both $P < 0.01$), and expression of I κ B α in monocytes was significantly increased in group C ($0.52 \pm 0.17/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$).

■背景资料

本组以往从艾灸对胃黏膜保护作用进行了系统研究,发现艾灸足三里等穴能诱导eHSP72表达,增强机体免疫功能,干预胃黏膜炎症损伤过程;但是艾灸对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)胃炎的干预作用,是否与细胞核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、I κ B α 有关还有待进一步研究。

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 郑州大学第二附属医院消化科

■研究前沿

艾灸、NF- κ B与胃黏膜炎性损伤有密切关系, 研究报道艾灸穴位处理能增强机体免疫功能, 干预胃黏膜炎性损伤。艾灸对*H. pylori*所致胃黏膜损伤的保护是否与NF- κ B、I κ B α 有关, 艾灸是否能通过调节NF- κ B、I κ B α 的表达来干预胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 是本研究的主要目的。

CONCLUSION: Moxibustion at acupoints can reduce *H. pylori*-induced gastric mucosal inflammatory injury possibly *via* mechanisms associated with reducing NF- κ B expression in monocytes and decreasing the release of inflammatory cytokines.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Moxibustion; *Helicobacter pylori* gastritis; Extracellular heat shock protein 72; NF- κ B; I κ B α

Lin YP, Feng YS, Yi SX, Peng Y, Shi DM, Hou YL. Effect of moxibustion treatment on expression of NF- κ B and I κ B α in peripheral blood monocytes of rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2563-2570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2563>

摘要

目的: 探讨艾灸对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)胃炎大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、I κ B α 含量的影响, 初步揭示艾灸干预*H. pylori*胃黏膜炎性损伤, 保护胃黏膜的机制。

方法: 50只健康大鼠随机分为5组, 即A空白组、B模型组、C艾灸组、D艾灸非穴点组和E电针组, 每组10只。采用*H. pylori*灌胃造模, 蛋白免疫印迹法检测大鼠外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 的含量。

结果: 与A组比较, B组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量显著升高(0 ± 2.0 vs 2.5 ± 2.5 , $0.54 \pm 0.11/\beta$ -actin vs $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著降低($0.21 \pm 0.03/\beta$ -actin vs $0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin, $P < 0.01$); 与B组比较, C组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量显著减低(2.5 ± 2.5 vs 0 ± 2.00 , $0.36 \pm 0.13/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著升高($0.65 \pm 0.18/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$); 与D组相比, C组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量明显升高(3.00 ± 2.5 vs 0 ± 2.00 , $0.36 \pm 0.12/\beta$ -actin vs $0.50 \pm 0.04/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著降低($0.64 \pm 0.19/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$); 与E组相比, C组大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞NF- κ B含量明显升高(3 ± 2.75 vs 0 ± 2.00 , $0.35 \pm 0.10/\beta$ -actin vs $0.50 \pm$

$0.04/\beta$ -actin, $P < 0.01$), I κ B α 含量显著降低($0.52 \pm 0.17/\beta$ -actin vs $0.24 \pm 0.06/\beta$ -actin, $P < 0.01$)。

结论: 艾灸穴位可减轻*H. pylori*胃炎胃黏膜炎性损伤, 此作用可能与艾灸诱导单核细胞I κ B α 大量表达, 抑制NF- κ B表达, 减少炎性细胞因子的释放, 减轻胃黏膜炎症损伤有关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 艾灸; 幽门螺杆菌相关性胃炎; 胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值; 核因子 κ B; I κ B α

核心提示: 本研究从细胞核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)入手探讨艾灸穴位是否能干预幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)所致胃黏膜炎性损伤, 是否通过调节NF- κ B、I κ B α 的释放来抑制胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 减轻胃黏膜炎性损伤, 从而为艾灸防治*H. pylori*胃炎提供理论依据。

林亚平, 封迎帅, 易受乡, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲. 艾灸对*Helicobacter pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2563-2570 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2563>

0 引言

研究认为核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)可参与炎症反应, 介导多种炎性细胞因子的生成^[1-4], I κ B α 的降解和磷酸化是NF- κ B活化的关键因素^[5]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是引起胃黏膜炎性损伤的主要病因^[6], 本组前期研究发现艾灸穴位预处理能增强机体免疫功能^[7], 减轻*H. pylori*胃炎大鼠的胃黏膜炎性损伤^[8], 但是艾灸是否可以通过调节NF- κ B、I κ B α 的释放来干预*H. pylori*胃炎的炎性损伤过程还不明确。因此, 本研究采用*H. pylori*灌胃建立大鼠*H. pylori*胃炎模型, 观察艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠NF- κ B、I κ B α 的影响, 初步探讨灸干预*H. pylori*胃黏膜炎性损伤的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠, SPF级, 雌雄各半, 体重180-220 g, 共50只, 由湖南中医药大学实验动物中心提供(合格证号SCXK(湘)2009-2004), 饲养于湖南中医药大学实验动物中心。控制室温20℃-22℃, 相对湿度65%-70%, 大鼠在自然光暗周期的环境中饲养, 所用颗粒饲料和垫料

均由湖南中医药大学动物实验中心提供。施灸材料为苏州东方艾绒厂生产的“神灸300灸”艾炷(型号: 东方一型), 直径0.5 cm, 高0.8 cm。*H. pylori*菌株(由南华大学微生物实验室提供*H. pylori*国际标准菌株SS1菌种, 湖南中医药大学微生物实验室培养*H. pylori*菌株); 小牛血清(上海瑞齐生物科技有限公司), *H. pylori*快速尿素酶试验试剂盒(三明市安信生物技术有限公司), 10%乌拉坦、0.9%NaCl和多聚甲醛(湖南中医药大学针灸推拿实验室配制); 阿莫西林(华北制药); 华佗牌针灸针由苏州医疗用品厂有限公司生产, G6805-2型电针治疗仪(上海医用电器厂); AUE-210电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); DK-8B电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司); ZLSC-5型不锈钢电热重蒸馏水器(上海申安医疗器械厂); DHG-9246A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); 石蜡切片机(美国820型AO切片机); 低温离心机(上海安亭科学医学仪器厂); MDF-U32V超低温冰箱(日本三洋); BCD-216/226STC海尔冰箱(海尔公司); 淋巴细胞的分离(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司); NF- κ B抗体(EPI 1546-1)、I κ B α 抗体(EPI 1130-s)、 β -actin(Santa Sc-1616r)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组: 所有大鼠按随机数字表法分为5组: A: 空白组, B: *H. pylori*胃炎模型(模型组), C: 模型+艾灸穴位组(艾灸组), D: 模型+艾灸非穴位组(艾灸对照点组), E: 模型+电针穴位组(电针组), 每组10只。

1.2.2 穴位定位: 动物穴位定位参考李忠仁主编《实验针灸学》常用动物穴位定位法及拟人对照法定位^[9]。足三里: 膝关节后外侧, 腓骨小头下约5 mm处; 中脘: 脐与胸骨剑突连线中点; 关元: 脐与耻骨联合上缘连线上3/5与下2/5交点, 约脐下25 mm处; 脾俞: 第十二胸椎棘突下, 旁开5 mm; 胃俞: 第十三胸椎棘突下, 旁开5 mm; 足三里的对照点: 在足阳明经和足太阳经之间, 平足三里; 中脘、关元的对照点: 分别在平中脘、关元穴的左侧腰部; 脾俞、胃俞的对照点: 在腋后线和肩胛下角的中线上, 分别平胸12、胸13。

1.2.3 动物造模方法: (1)*H. pylori*胃炎造模: 大鼠禁食12 h, 先以NaHCO₃+消炎痛溶液0.5 mL/只灌胃, 禁食6 h后再以*H. pylori*(含量10⁹/mL)1.5 mL/只灌胃, 隔天1次, 连续5次, 灌胃完毕后, 禁食禁水4 h, 之后正常喂养; (2)造模成功指标: 尿素酶试验阳性, 胃黏膜涂片革兰染色发现*H. pylori*,

胃黏膜组织HE染色镜检显示有炎性损伤即胃黏膜上皮细胞脱落并有炎性细胞浸润。

1.2.4 艾灸、电针方法: (1)艾灸方法: 取大鼠双侧足三里、中脘、关元、双侧脾俞和双侧胃俞穴及这些穴位的对照点(非穴点)。局部剪毛, 艾炷粘于穴位或非穴对照点上点燃施灸。单日大鼠仰卧位固定, C组灸足三里、中脘和关元穴, D组灸足三里、中脘和关元穴的对照点; 双日大鼠俯卧位固定, C组灸脾俞和胃俞, D组灸脾俞和胃俞的对照点。采用苏州东方艾绒厂提供的“神灸300灸”艾炷进行施灸, 每个艾灸部位连续艾灸5壮, 总延时约20 min左右, 每日1次, 连续16 d; (2)电针方法: 取大鼠双侧足三里、中脘、关元、双侧脾俞和双侧胃俞穴后穴位局部剪毛、络合碘消毒, 采用1寸、30号的华佗牌针灸针分别进行针刺, 针刺深度约4 mm左右, 针刺后连电针, 其中两侧足三里穴接在G6805-2型电针仪的第一组输出线上, 中脘和关元、两侧脾俞、两侧胃俞分别接在电针仪的第二、三、四组输出线上。单日大鼠仰卧位固定, E组电针足三里、中脘和关元穴; 双日大鼠俯卧位固定, E组电针脾俞和胃俞。一只大鼠每次共接两组输出线, 采用疏密波, 频率4-50 Hz, 脉宽0.5 ms, 输出电压2-4 V, 强度以肢体出现轻微颤抖为度, 电针时间20 min, 1次/d, 连续16 d。

1.2.5 实验步骤: 所有动物分组后予以浓度为2.5 g/L的阿莫西林生理盐水溶液0.5 mL/只灌胃, 2次/d, 连续3 d(杀灭大鼠上消化道可能定植的*H. pylori*); 第4天起每天13点所有大鼠捆绑于鼠板上, A、B组每日仅捆绑不做治疗, C、D组予以艾灸治疗, E组予以电针治疗, 1次/d, 连续16 d; 同时, 从实验第11天(即艾灸的第8天)开始灌胃, 隔天1次, 连续5次(即9 d), 灌胃前所有的大鼠禁食12 h, 上午10点左右A组先予以生理盐水0.5 mL/只灌胃, B、C、D、E组予以NaHCO₃+消炎痛溶液0.5 mL/只灌胃; 再禁食不禁水6 h后, 在下午16:30开始进行第2次灌胃, A组予以生理盐水1.5 mL/只灌胃, B、C、D、E组予以*H. pylori*(1 \times 10⁹)1.5 mL/只灌胃, 灌胃完毕后, 禁食禁水4 h, 之后正常喂养; 于最后一次灌胃(艾灸)结束后的第4周(28 d), 禁食12 h后全部大鼠以10%乌拉坦(1 mL/100 g)麻醉固定取材。胃黏膜处理: 大鼠剖腹取胃, 沿胃大弯剖开, 用冷生理盐水冲洗胃内残留物, 计数胃黏膜损伤指数。血清处理: 腹主动脉采血, 常温放置2-3 h, 4 $^{\circ}$ C 2000 r/min, 离心10 min, 取上清液, EP管分装, -20 $^{\circ}$ C保存, 待测。

■相关报道

研究发现艾灸对胃黏膜损伤有保护作用, 灸疗对机体的免疫作用是一切作用的基础, 目前从单核细胞NF- κ B、I κ B α 方面来研究艾灸的免疫调节作用是近年研究的热点。

■创新盘点

本研究结果显示艾灸足三里等穴可降低*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜HE染色镜检胃黏膜炎症积分值, 增高单核细胞I κ B α 含量, 降低NF- κ B含量, 说明艾灸足三里等穴能通过调节单核细胞I κ B α 、NF- κ B含量, 达到对胃黏膜的保护作用, 并有一定穴位特异性。

1.2.6 观察指标: (1)胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值, 根据参考文献[10-13], 从下面3个方面对胃组织炎症损伤进行评分: (1)炎症细胞浸润: 无(0分), 炎症细胞较少(1分), 数量较多(2分), 炎症细胞密集(3分); (2)浸润深度: 局限于黏膜浅层不超过黏膜层的1/3(1分), 炎症细胞浸入黏膜下层黏膜全层的2/3(2分), 浸入黏膜全层或肌层(3分); (3)破损程度: 无(0分), 上皮(1分), 黏膜固有层(2分), 黏膜肌层(3分)。将上述分值相加作为炎症损伤总分值进行组间比较。胃黏膜组织HE染色镜检按下面步骤进行HE染色: 组织入4%多聚甲醛固定24 h以上; 梯度乙醇脱水: 750 mL/L乙醇(ALC)2-4 h, 80%ALC 2-4 h, 95%ALC 3-4 h, 无水乙醇4 h, 二甲苯透明4 h; 包埋、自然冷却后修整蜡块置低温保存备用; 切片: 切片厚4-5 μ m, 铺片, 60 $^{\circ}$ C温箱中烤片; 染色: 切片脱蜡, 二甲苯2次各10 min, 无水乙醇3-5 min, 950 mL/L乙醇3-5 min, 800 mL/L乙醇5-10 min, 自来水洗约5 min, 苏木素液染色约5-10 min, 自来水洗去多余染液, 入750 mL/L乙醇(100 mL乙醇中加浓盐酸1 mL)分色数秒钟立即水洗并蓝化; 1%伊红水液染色3-5 min水洗; 入750-800 mL/L乙醇分色2-4 min, 950 mL/L乙醇脱水3-5 min, 无水乙醇脱水3-5 min; 二甲苯透明中性树胶封片; 干后镜下观察并显微采图; (2)外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 含量测定: 按照EPI公司的大鼠外周血单核细胞NF- κ B、I κ B α 的测定检测试剂盒的要求, 采用蛋白免疫印记检测, 具体步骤如下: 蛋白提取: 在每 10^6 单核细胞中加250 μ L细胞总蛋白提取试剂(使用前数分钟内加入cocktail、PMSF和磷酸化蛋白酶抑制剂), 振荡。如果需提高蛋白浓度, 可以适当减少细胞总蛋白提取试剂体积; 将加有蛋白提取试剂的细胞放在冰上孵育30 min。其间每5 min用200 μ L移液器反复吹打。直至悬液清澈、不黏稠; 1200 r/min离心10 min, 上清即为提取的总蛋白。蛋白浓度测定: 采用Bradford方法测定; 标准曲线制作: 10 mg/mL BSA用生理盐水稀释为1 mg/mL; 样品浓度测定: 900 μ L Bradford加入1 μ L待测蛋白和99 μ L 0.9%生理盐水, 混匀后在595 nm处检测吸光度。根据标准品做出的标准曲线上计算出各样本蛋白浓度; 测完蛋白含量后, 计算含40 μ g蛋白的溶液体积即为上样量; 在蛋白标本中加入适当体积的蛋白上样缓冲液, 沸水浴5 min; SDS-PAGE电泳: 清洗玻璃板; 灌胶与上样: 将玻璃板对齐后放入夹中卡紧, 操作时要使两玻璃

对齐, 以免漏胶; 按实验安排配制分离胶, 加入TEMED后立即摇匀即可灌胶。大约45 min后可倒去胶上层水并用吸水纸将剩余水吸干; 按前面方法配5%的浓缩胶, 加入TEMED后立即摇匀即可灌胶。将剩余空间灌满浓缩胶然后将梳子插入浓缩胶中; 加足够的电泳液后上样电泳: 将样品加入电泳孔中, 电泳; 浓缩胶电压75 V, 分离胶用120 V; 电泳至溴酚蓝刚跑出即可终止电泳, 进行转膜; 转膜: 准备6张7 cm \times 9 cm的滤纸和一张大小适中的0.45 μ m PVDF膜, PVDF膜在使用之前要先用甲醇活化; 在加有转移液的盆里放入转膜用的夹子, 两块海绵垫, 一支玻棒, 滤纸和经过活化的PVDF膜; 将夹子打开使黑的一面保持水平; 在垫子上垫海绵、三层滤纸; 小心剥下分离胶盖于滤纸上, 将膜盖于胶上, 并除气泡; 在膜上盖三张滤纸并除去气泡, 最后盖上另一个海绵垫; 转膜条件: 200 mA, 1 h; 免疫反应: 将转好的膜于室温下脱色摇床上用5%的脱脂牛奶(0.5%TBST配), 封闭1 h; 稀释一抗(TBST溶解的5%脱脂牛奶), 4 $^{\circ}$ C过夜; 用TBST在室温下脱色摇床上洗3次, 每次5 min; 将二抗用TBST稀释3000倍, 室温下孵育30 min后, 用TBST在室温下脱色摇床上洗3次, 每次5 min; 化学发光: 将A和B两种试剂在离心管中等体积混合, 将膜蛋白面朝上与此混合液充分接触, 1-2 min后, 去尽残液, 包好, 放入X-光片夹中曝光; 根据不同的光强度调整曝光条件, 显影、定影; 凝胶图像分析: 将胶片进行扫描存档, Alpha软件处理系统分析目标带的灰度值, 以目的蛋白的灰度值除以内参 β -actin的灰度值以校正上样误差, 最后与对照组比较, 测定其相对光密度值即蛋白表达差异倍数(单位为 β -actin), 其中光密度值高说明表达多, 光密度值低说明表达少。

统计学处理 所有资料进行正态性检验, 符合正态分布的数据用mean \pm SD表示, 多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐者用LSD法, 方差不齐者用Tamhane's T2法; 非正态分布数据用中位数与四分位数间距[M(Q)]表示, 采用秩和检验。所有数据使用SPSS19 for Windows软件进行处理, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃黏膜涂片革兰氏染色检查 空白组胃黏膜革兰染色后镜检没有发现有红色的弧形或*H. pylori*; 模型组胃黏膜染色后镜检可见大量红

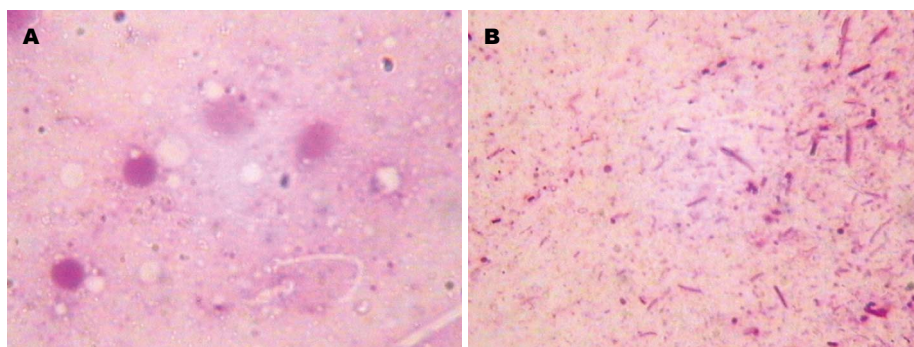


图1 空白组和模型组大鼠胃黏膜涂片革兰氏染色镜检结果. A: 空白组; B: 模型组.

■同行评价
本文设计合理, 实验方法科学, 结论中肯, 具有一定指导意义.

表1 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜炎症程度评分积分值影响 [$n=10$, $M(Q)$]

分组	胃黏膜炎症程度评分积分值
空白组	0(0)
模型组	3(2.5) ^b
艾灸组	0(0) ^d
艾灸对照点组	3(2.5)
电针组	2.5(2.0)

^b $P<0.01$ vs A组; ^d $P<0.01$ vs B组; ^c $P<0.01$ vs D组; ^e $P<0.01$ vs E组.

色的弧形或*H. pylori*(图1), 说明*H. pylori*灌胃后大鼠感染了*H. pylori*.

2.2 艾灸对各组大鼠HE染色镜检胃组织形态学变化的影响 与A组比较, B、D、E组大鼠胃黏膜上皮明显破损、脱落, 固有层中腺体浅层被破坏, 有少数炎症细胞浸润, 胃黏膜上皮损伤明显; 与B、D、E组比较, C组大鼠胃黏膜破损、脱落较轻, 炎症细胞浸润较少, 说明艾灸预处理对胃黏膜损伤的炎症浸润有抑制作用, 能促进胃黏膜的修复(图2).

2.3 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值影响 与A组比较, B组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值升高($P<0.01$); 与B组相比, C组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值降低($P<0.01$), D、E组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值无明显降低($P>0.05$); 与D、E组相比, C组大鼠胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值明显降低($P<0.01$), 以上结果提示: *H. pylori*灌胃造模后, 胃黏膜受损; 艾灸预处理可降低胃黏膜组织HE染色镜检炎症程度评分积分值, 减轻胃黏膜炎症损伤, 且减轻胃黏

膜炎症损伤作用优于艾灸非穴位与电针组(表1).

2.4 艾灸对*H. pylori*胃炎大鼠外周血单核细胞I κ B α 、NF- κ B表达的影响 与A组比较, B组大鼠单核细胞I κ B α 含量降低($P<0.05$); 与B组比较, C组大鼠单核细胞I κ B α 含量增加($P<0.05$), D、E组大鼠单核细胞I κ B α 含量无明显增加($P>0.05$); 与D、E组比较, C组大鼠单核细胞I κ B α 表达增加($P<0.05$), 以上提示: *H. pylori*灌胃造模后, 大鼠单核细胞I κ B α 表达量显著下降, 艾灸穴位组可以使*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞I κ B α 表达增加, 而电针穴位和艾灸对照点组不能增加*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞I κ B α 含量, 艾灸穴位组增加大鼠单核细胞I κ B α 表达效果优于电针和艾灸非对照点组的效果(表2, 图3). 与A组比较, B组大鼠单核细胞NF- κ B表达量增强($P<0.01$); 与B组比较, C组大鼠单核细胞NF- κ B表达量下降($P<0.01$), D、E组大鼠单核细胞NF- κ B表达量无明显下降($P>0.05$); 与D、E组比较, C组大鼠单核细胞NF- κ B表达降低($P<0.01$), 提示: *H. pylori*灌胃造模后, 大鼠单核细胞NF- κ B表达量显著上升, 艾灸穴位组可以使*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B表达降低, 而电针穴位和艾灸对照点预处理不能降低*H. pylori*胃炎大鼠单核细胞NF- κ B表达, 艾灸穴位组降低大鼠单核细胞NF- κ B表达效果优于电针和艾灸非对照点组的效果(表2, 图3).

3 讨论

慢性胃炎属于祖国医学“胃脘痛”范围, 临床上约70%-80%的患者可无任何症状, 有症状者主要表现为上腹不适、饱胀、钝痛、烧灼痛等非特异性的消化不良症状^[6]. *H. pylori*感染是导致胃炎的主要原因, *H. pylori*感染活动期胃黏膜固有层、小凹上皮和腺上皮之间可出现中性粒细胞浸润, 炎症的静息期则以淋巴细胞和浆细

表 2 艾灸对 *H. pylori* 胃炎大鼠单核细胞 I κ B α 、NF- κ B 相对光密度值的影响 ($n = 5$, mean \pm SD)

分组	I κ B α (相对光密度值)/ β -actin)	NF- κ B(相对光密度值)/ β -actin)
空白组	0.54 \pm 0.11	0.21 \pm 0.03
模型组	0.36 \pm 0.13 ^a	0.65 \pm 0.18 ^b
艾灸组	0.50 \pm 0.04 ^{c, eg}	0.24 \pm 0.06 ^{d, fh}
艾灸对照点组	0.36 \pm 0.12	0.64 \pm 0.19
电针组	0.35 \pm 0.10	0.52 \pm 0.17

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^c $P < 0.05$, ^e $P < 0.01$ vs 模型组; ^d $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs 艾灸对照点组;

^g $P < 0.05$, ^h $P < 0.01$ vs 电针组.

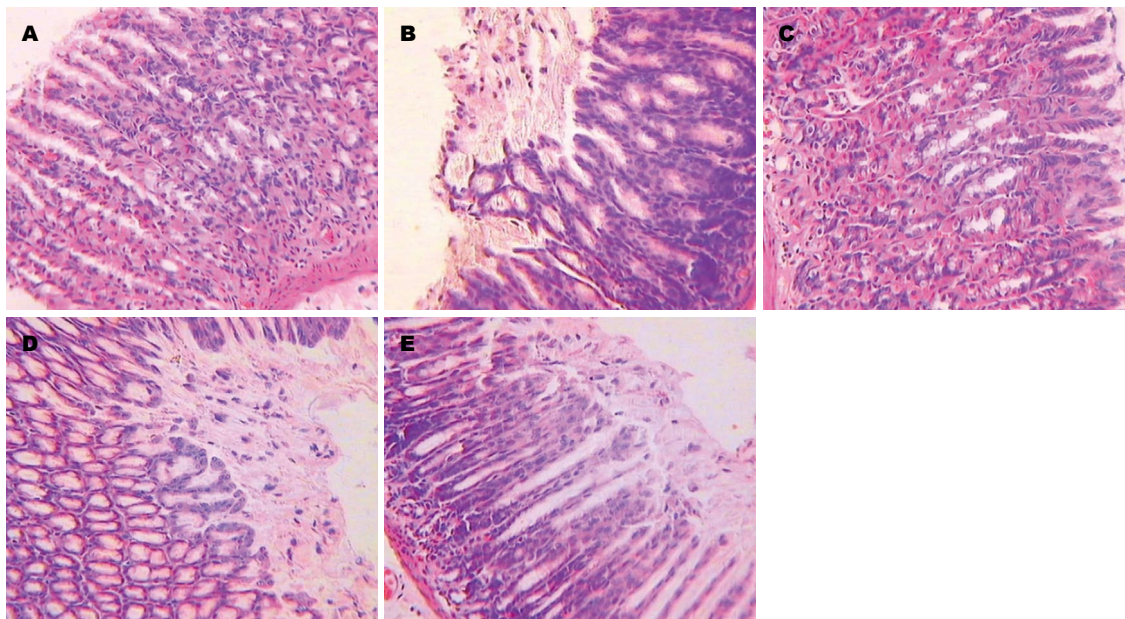


图 2 各组胃组织HE染色后镜检形态学比较($\times 250$). A: 空白组; B: 模型组; C: 艾灸组; D: 艾灸对照点组; E: 电针组.

胞慢性炎症浸润为主. 目前关于 *H. pylori* 相关性慢性胃炎的诊断主要是组织学、尿素酶、细菌培养、¹⁴C-尿素呼气试验任一项阳性证实有 *H. pylori* 现症感染, 病理切片检查有慢性胃炎的组织学改变^[14].

NF- κ B 命名是因为他是作为 B 细胞细胞核转录因子被发现, 免疫球蛋白 κ 轻链基因是他的结合位点, 他是以 p50/p65 异二聚体形式存在于哺乳动物细胞浆中的转录因子, 在静息状态下, 与抑制性蛋白 I κ B 结合在一起, 以无活性的形式存在于细胞质中. 当他被细菌、病毒、LPS、氧化剂和自由基等刺激后^[15-17], I κ B 被磷酸化和降解, 使 NF- κ B 与 I κ B 解离, 游离的 NF- κ B 转入细胞核内, 启动基因转录^[18], 诱导细胞因子的转录. NF- κ B 被认为是最重要的炎症调节信号通路之一^[19,20]. 抑制蛋白 I κ B 主要由 I κ B α 、I κ B β 和 I κ B ϵ 3 种分子组成的蛋白家族, 其中 I κ B α 是 NF- κ B

激活途径中主要的调节分子, I κ B 与 NF- κ B 结合可以阻止细胞质中的 NF- κ B 进入细胞核和调控其转录功能, 抑制 NF- κ B 活化^[21]. NF- κ B 信号通路^[22] 参与了感染、炎症、免疫反应和细胞凋亡等病理过程^[23-25], I κ B α 的降解和磷酸化是 NF- κ B 活化的最关键因素. 因此, 研究证明可以通过阻止 I κ B α 降解来抑制 NF- κ B 的活化, 从而阻断 NF- κ B 炎性信号转导途径, 缓解组织炎症损伤^[19,20].

总之, *H. pylori* 灌胃造模后, 大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 含量显著升高, I κ B α 含量显著降低; 艾灸穴位处理后大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 含量显著降低, I κ B α 含量显著增加; 电针穴位和艾灸对照点处理后大鼠胃黏膜 HE 染色镜检胃黏膜炎症积分值和单核细胞 NF- κ B 无明显降低, I κ B α 含量无明显增加; 提示: *H. pylori* 直接灌胃后, 大鼠胃黏膜明显受损; 电

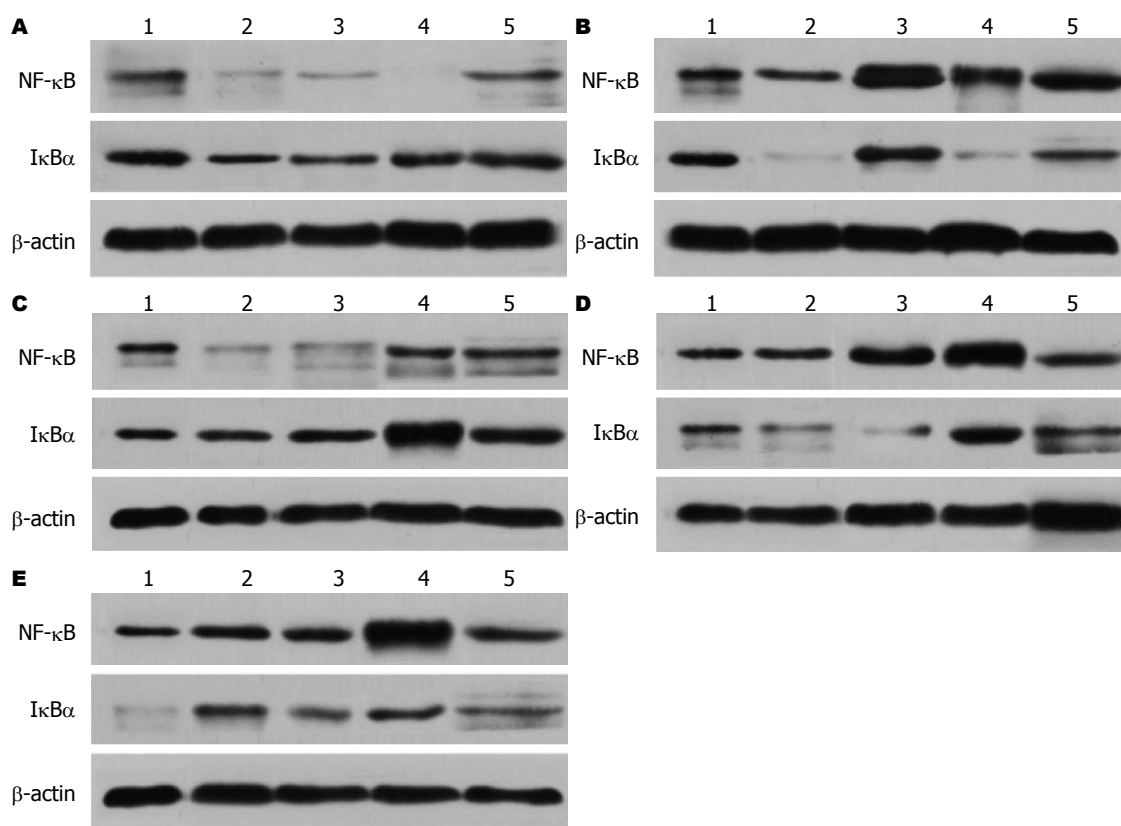


图3 各组大鼠单核细胞NF- κ B相对光密度值比较. A: 空白组; B: 模型组; C: 艾灸组; D: 艾灸对照点组; E: 电针组.

针灸位和艾灸对照点处理不能减轻对*H. pylori*胃炎的炎性损伤; 艾灸穴位可减轻*H. pylori*胃炎胃黏膜炎性损伤, 此作用可能与艾灸诱导单核细胞I κ B α 大量表达, 抑制NF- κ B表达, 减少炎性细胞因子的释放, 干预胃黏膜局部炎性细胞的浸润, 减轻胃黏膜炎症损伤有关.

4 参考文献

- Mizgerd JP, Spieker MR, Doerschuk CM. Early response cytokines and innate immunity: essential roles for TNF receptor 1 and type I IL-1 receptor during *Escherichia coli* pneumonia in mice. *J Immunol* 2001; 166: 4042-4048 [PMID: 11238652]
- Mizgerd JP, Lupa MM, Hjoberg J, Vallone JC, Warren HB, Butler JP, Silverman ES. Roles for early response cytokines during *Escherichia coli* pneumonia revealed by mice with combined deficiencies of all signaling receptors for TNF and IL-1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L1302-L1310 [PMID: 14966082 DOI: 10.1152/ajplung.00353.2003]
- Jones MR, Simms BT, Lupa MM, Kogan MS, Mizgerd JP. Lung NF-kappaB activation and neutrophil recruitment require IL-1 and TNF receptor signaling during pneumococcal pneumonia. *J Immunol* 2005; 175: 7530-7535 [PMID: 16301661]
- Lee JS, Frevert CW, Matute-Bello G, Wurfel MM, Wong VA, Lin SM, Ruzinski J, Mongovin S, Goodman RB, Martin TR. TLR-4 pathway mediates the inflammatory response but not bacterial elimination in *E. coli* pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289: L731-L738 [PMID: 16024722 DOI: 10.1152/ajplung.00196.2005]
- Perkins ND. The Rel/NF-kappa B family: friend and foe. *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 434-440 [PMID: 10973057 DOI: 10.1016/S0968-0004(00)01617-0]
- 王吉耀, 廖二元, 胡品津. 内科学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 414-418
- 张淑君. 试论灸法“治未病”. *中国针灸* 2008; 28: 739-741
- 封迎帅, 易受乡, 林亚平, 彭艳, 史冬梅, 侯艳玲. 艾灸预处理对幽门螺杆菌胃黏膜炎性损伤大鼠血清IgG和eHSP72含量的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1131-1136
- 李忠仁. 实验针灸学. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 327-329
- Price AB. The Sydney System: histological division. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 209-222 [PMID: 1912431 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1991.tb01468.x]
- Nagahata Y, Kawakita N, Azumi Y, Numata N, Yano M, Saitoh Y. Etiological involvement of *Helicobacter pylori* in "reflux" gastritis after gastrectomy. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2130-2134 [PMID: 8855735]
- 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性胃炎的中西医结合诊治方案(草案). *中国中西医结合杂志* 2005; 25: 172-175
- 陈曦, 杨世忠, 迟宝荣. 大鼠炎症性肠病模型的复制及中药的干预作用. *吉林大学学报(医学版)* 2008; 34: 262-266
- 中华医学会消化病学分会, 全国慢性胃炎研讨会共识意见. *中华消化杂志* 2000; 20: 199-201
- Grumont RJ, Gerondakis S. Rel induces interferon regulatory factor 4 (IRF-4) expression in lymphocytes: modulation of interferon-regulated gene

- expression by rel/nuclear factor kappaB. *J Exp Med* 2000; 191: 1281-1292 [PMID: 10770796 DOI: 10.1084/jem.191.8.1281]
- 16 Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem* 1999; 45: 7-17 [PMID: 9895331]
- 17 Gugasyan R, Grumont R, Grossmann M, Nakamura Y, Pohl T, Nesic D, Gerondakis S. Rel/NF-kappaB transcription factors: key mediators of B-cell activation. *Immunol Rev* 2000; 176: 134-140 [PMID: 11043773 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2000.00615.x]
- 18 May MJ, Ghosh S. Signal transduction through NF-kappa B. *Immunol Today* 1998; 19:80-88 [PMID: 9509763]
- 19 Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1317-1327 [PMID: 10924851 DOI: 10.1016/S0891-5849(00)00218-5]
- 20 Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* 1999; 18: 6853-6866 [PMID: 10602461 DOI: 10.1038/sj.onc.1203239]
- 21 史艳晖, 卢圣栋. 转录因子NFκB的研究现状及其应用前景. *中国生物工程杂志* 2007; 27: 110-112
- 22 Silverman N, Maniatis T. NF-kappaB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev* 2001; 15: 2321-2342 [PMID: 11562344 DOI: 10.1101/gad.909001]
- 23 Aradhya S, Nelson DL. NF-kappaB signaling and human disease. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 300-306 [PMID: 11377967 DOI: 10.1016/S0959-437X(00)00194-5]
- 24 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11 [PMID: 11134171 DOI: 10.1172/JCI11830]
- 25 Baldwin AS. Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease. *J Clin Invest* 2001; 107: 3-6 [PMID: 11134170 DOI: 10.1172/JCI11891]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001

林颖, 硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

福建省自然科学基金(青年)资助项目, No. 2010J05062, No. 2010J01165

福建省卫生厅青年基金资助项目, No. 2010-1-10

2012福建省临床医学重点专科基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由林颖、黄月红、王小众及张莉娟设计; 研究过程由林颖、黄月红及陈治新操作完成; 数据分析与论文写作由林颖完成。

通讯作者: 黄月红, 副主任检验师, 350001, 福建省福州市新权路29号, 福建医科大学附属协和医院消化内科。

2003huangyh@sina.com

电话: 0591-83357896-8482

收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of intravenous injection of recombinant IL-10 gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats

Ying Lin, Yue-Hong Huang, Zhi-Xin Chen, Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang

Ying Lin, Yue-Hong Huang, Zhi-Xin Chen, Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Supported by: the Nature Science Foundation of Fujian Province, No. 2010J05062, No. 2010J01165; the Young Scientific Research Fund of Department of Public Health of Fujian Province, No. 2010-1-10; the Key Clinical Specialty Discipline Construction Program of Fujian, P. R. C

Correspondence to: Yue-Hong Huang, Deputy Director of Clinical Laboratory Examine, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, 29 Xinquan Road, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. 2003huangyh@sina.com

Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To study the effect of intravenous injection of recombinant IL-10 (*rIL-10*) gene vector on the expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), platelet derivative growth factor- β (PDGF- β) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in pig serum-induced experimental liver fibrosis in rats.

METHODS: Thirty SD rats were divided into a normal control and a fibrosis model group. The normal control group was intraperitoneally injected with 0.5 mL of normal sodium twice a week for 8 wk, while the fibrosis model group was injected with equal volume of pig serum for the same duration. At the beginning of the 5th week, the fibrosis model group was further randomly divided into a fibrosis model subgroup, a *rIL-10* gene therapy subgroup and an empty vector control subgroup. Rats in the normal control group and fibrosis model subgroup were injected with Ringer's solution (as a reagent control) *via* the tail vein weekly, the *rIL-10* gene therapy subgroup was injected with *rIL-10* plasmid pcDNA3-*rIL-10*, and the empty vector control subgroup was injected with empty vector pcDNA3. All rats were sacrificed at the end of the 8th week, and liver tissue samples were collected to observe pathological changes in liver tissue by HE staining and to detect the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in liver tissue by immunohistochemistry.

RESULTS: Histopathology analysis proved that experimental liver fibrosis was induced successfully with pig serum. Compared with the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup, the *rIL-10* gene therapy subgroup showed mild liver cell degeneration, decreased inflammatory cell infiltration and collagen deposition. Compared with the normal control group, the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 was significantly increased in the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup (0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 *vs* 0.1860 ± 0.0104 ; 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 *vs* 0.2514 ± 0.0228 ; 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 *vs* 0.1987 ± 0.0106 , all $P < 0.01$). Compared with the fibrosis model subgroup and empty vector control subgroup, the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 was significantly reduced in the *rIL-10* gene therapy subgroup (0.2048 ± 0.0124 *vs* 0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 ; 0.2513 ± 0.0165 *vs* 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 ; 0.1961 ± 0.0142 *vs* 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 , all $P < 0.01$).

■背景资料

肝纤维化是以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积为特征的创伤愈合过程, 肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化发生发展中的关键细胞, HSC活化受细胞因子和细胞内信号转导途径所调控, 其活化过程中的相关调控因子是抗纤维化治疗的重要靶向目标。肝纤维化分子机制的不断阐明, 将为攻克肝纤维化治疗带来希望。

■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■ 研发前沿

通过抑制肝组织内促纤维化因子的表达从而抑制HSC的活化,促进I、III型胶原的降解,从而减少ECM沉积,对肝纤维化形成具有一定的拮抗作用。因此如何抑制促肝纤维化因子的表达成为当前研究热点。

CONCLUSION: *rIL-10* gene treatment attenuates pig serum-induced liver fibrosis in rats possibly by reducing the expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in liver tissue.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Interleukin-10; Rat; Tumor necrosis factor; Platelet derivative growth factor- β ; Cyclooxygenase-2

Lin Y, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ, Zhang LJ. Effect of intravenous injection of recombinant *IL-10* gene vector on expression of TNF- α , PDGF- β and COX-2 in experimental fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2571-2577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2571>

摘要

目的: 探讨大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预对猪血清诱导的大鼠肝纤维化的拮抗作用及其对肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)表达的影响。

方法: 30只清洁级SD大鼠被随机分为正常对照组(N组)和纤维化模型组, N组每周腹腔注射2次生理盐水, 每次0.5 mL, 共8 wk; 纤维化模型组每周腹腔注射2次猪血清, 每次0.5 mL, 共8 wk。至造模第5周开始纤维化模型组随机分为纤维化组(M组), *rIL-10*质粒治疗组(I组), 空质粒对照组(P组)。N组和M组大鼠尾静脉注射林格氏液作为试剂对照, I组大鼠尾静脉注射pcDNA3-*rIL-10*质粒, P组大鼠尾静脉注射pcDNA3.0空质粒, 1次/wk。所有大鼠在第8周末处死, 通过HE染色检测各组大鼠肝组织病理改变; SP免疫组织化学检测各组大鼠肝脏TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的情况。

结果: 肝组织学病理显示猪血清诱导肝纤维化模型造模成功, *rIL-10*基因干预能明显降低大鼠肝纤维化的程度, 与M组和P组相比, I组纤维化程度明显下降。免疫组织化学结果显示: M组、P组TNF- α 、PDGF- β 和COX-2较N组表达明显增加(0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 vs 0.1860 ± 0.0104 ; 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 vs 0.2514 ± 0.0228 ; 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 vs 0.1987 ± 0.0106 , 均 $P < 0.01$); I组TNF- α 、PDGF- β 和COX-2较M组、P组表达显著减低(0.2048 ± 0.0124 vs

0.2206 ± 0.0434 , 0.2217 ± 0.0518 ; 0.2513 ± 0.0165 vs 0.2891 ± 0.0417 , 0.2818 ± 0.0272 ; 0.1961 ± 0.0142 vs 0.2174 ± 0.0429 , 0.2117 ± 0.0221 , 均 $P < 0.01$)。

结论: *rIL-10*基因干预能有效拮抗猪血清诱导的大鼠肝纤维化形成, 其机制可能与其抑制肝组织中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝纤维化; 白介素-10; 大鼠; 肿瘤坏死因子- α ; 血小板衍生生长因子- β ; 环氧合酶-2

核心提示: 肝组织学病理显示猪血清诱导肝纤维化模型造模成功, 大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预能明显降低大鼠肝纤维化的程度, 免疫组织化学结果显示通过大鼠尾静脉高压注射*rIL-10*质粒显著降低肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 其机制可能为*rIL-10*基因在肝组织中高表达, 高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而发挥抗纤维化作用。

林颖, 黄月红, 陈治新, 王小众, 张莉娟. 白介素-10基因干预对纤维化大鼠TNF- α 、PDGF- β 和COX-2表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2571-2577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2571.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2571>

0 引言

肝纤维化是由于肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与降解失衡所致, 肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝脏合成ECM的主要细胞, 其活化与增殖是肝纤维化形成的中心环节^[1], 细胞因子在此环节中起着重要作用。白介素-10(interleukin-10, IL-10)是一种免疫抑制细胞因子, 具有免疫调节作用及抗炎作用^[2], 但其拮抗肝纤维化的作用机制仍不清楚。本研究室先期研究证实外源性IL-10具有抑制肝脏的炎症反应、抑制HSC的活化与增殖和抑制ECM的合成等抗纤维化的特性, 为*IL-10*基因治疗肝纤维化提供了一定的理论依据^[3]。本实验采用猪血清诱导肝纤维化模型, 行大鼠白介素-10(rat interleukin-10, *rIL-10*)基因干预, 通过观察肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血

小板衍生生长因子- β (platelet derivative growth factor- β , PDGF- β)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在肝组织中的表达情况,进而探讨*rIL-10*基因干预对肝纤维化形成的拮抗作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料 δ 清洁级SD大鼠30只, 体质量200-300 g, 中国科学院上海实验动物中心[许可证号SCXK(沪)2003-0003], 清洁级条件喂养, 自由进食进水; pcDNA-rIL-10真核表达质粒由本实验室构建; rIL-10单克隆抗体由美国Biosource公司生产; rIL-10 ELISA试剂盒由美国Biosource公司生产; Qiagen Maxi-Prep试剂盒由美国Qiagen公司生产; Porcine serum由芬兰PAA细胞培养公司生产; 抗体及SP试剂盒由北京中山生物技术有限公司生产; 台式高速离心机(型号: 5417C)为德国Eppendorf公司产品; 相差显微镜(型号: CK2)为日本奥林巴斯公司产品; 显微数码成像系统(型号: BX-41)为日本奥林巴斯公司产品; 酶标仪(型号: ELX-800)为美国宝特BIO-TEK公司产品; 干燥箱(型号: UH-686-101A)为上海实验仪器有限公司产品; 电热恒温水温箱(型号: HW1)为上海实验仪器有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 分组: 30只 δ 清洁级SD大鼠被随机分为正常对照组(N组, 6只)和纤维化模型组(24只)。N组每周腹腔注射2次生理盐水, 每次0.5 mL, 共8 wk; 纤维化模型组每周腹腔注射2次猪血清, 每次0.5 mL, 共8 wk; 至造模第5周开始, 模型组被随机分为肝纤维化模型组(M组, 8只), pcDNA3-rIL-10质粒治疗组(I组, 8只), pcDNA3.0空质粒对照组(P组, 8只)。N组和M组大鼠尾静脉注射林格氏液作为试剂对照, I组大鼠尾静脉注射pcDNA3-rIL-10质粒, P组大鼠尾静脉注射pcDNA3.0空质粒, 每周1次。所有大鼠在实验第8周末处死, 收集各组大鼠肝组织。

1.2.2 肝组织病理学检查: 分别将各实验组大鼠肝组织用40g/L甲醛固定后石蜡包埋、切片后行HE染色。

1.2.3 免疫组织化学法检测大鼠肝组织TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达: 采用SP免疫组织化学染色, 具体操作按北京中山生物技术有限公司SP试剂盒说明进行。省略一抗和二抗作为空白对照; 以PBS替换一抗, 作为阴性对照。阳性染色者在细胞质或/和细胞核或/和细胞膜有棕黄色

颗粒沉着。染色结果根据染色细胞多少及染色深浅判断各指标表达情况, 使用Image-pro plus 5.0软件检测各组目的蛋白平均光密度。

统计学处理 计量资料以mean \pm SD表示, 组间差异用SPSS17.0统计分析软件包处理, 采用方差分析, $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏组织病理学变化 本实验组织病理学结果见文献[4], 如图1所示N组大鼠肝内可见肝小叶结构正常, 肝细胞索排列正常, 仅少量胶原纤维在汇管区中央静脉分布。M组大鼠肝组织发生严重的病理改变: 肝细胞脂肪变性, 中性粒细胞和单核细胞浸润, 大量胶原从汇管区沿肝细胞界板向内延伸形成粗细不等的纤维隔, 小叶结构紊乱, 部分假小叶形成。I组肝细胞变性坏死程度显著减轻, 汇管区及其周围炎性细胞浸润很少, 小叶结构虽有部分紊乱, 但肝纤维化程度较M组明显减轻。P组大鼠肝组织炎症程度与纤维化程度没有明显的改变, 与M组相似。

2.2 免疫组织化学法检测大鼠肝组织TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达

2.2.1 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中TNF- α 的表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果镜下如图2: TNF- α 棕黄色阳性着色部位主要见于肝细胞等细胞的胞质和胞膜。与N组比较, M组、P组TNF- α 阳性表达明显增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组TNF- α 阳性着色范围及程度均显著降低, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1)。

2.2.2 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中PDGF- β 表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果如图3: PDGF- β 棕黄色阳性着色部位主要见于肝细胞等细胞的胞质和胞膜。与N组比较, M组、P组PDGF- β 阳性表达增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组PDGF- β 阳性着色范围及程度均显著降低($P<0.01$)(表1)。

2.2.3 *rIL-10*基因干预后各组大鼠肝组织中COX-2表达情况: 大鼠肝组织免疫组织化学染色结果镜下如图4: COX-2棕黄色阳性着色位于肝细胞等细胞的胞质。与N组比较, M组、P组COX-2阳性表达增强, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1); 与M组、P组比较, I组COX-2阳性着色范围及程度均显著降低, 差别具有统计学意义($P<0.01$)(表1)。

■ 相关报道

近年来Brito等通过研究发现, 在肝纤维化的进展中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2扮演重要角色, 是抗纤维化治疗重要靶标。

■创新盘点

通过向大鼠尾静脉高压注射白介素-10(rat interleukin-10, rIL-10)质粒使*rIL-10*基因在肝组织中高表达, 而高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而抑制HSC的活化, 进而起到抗纤维化作用。

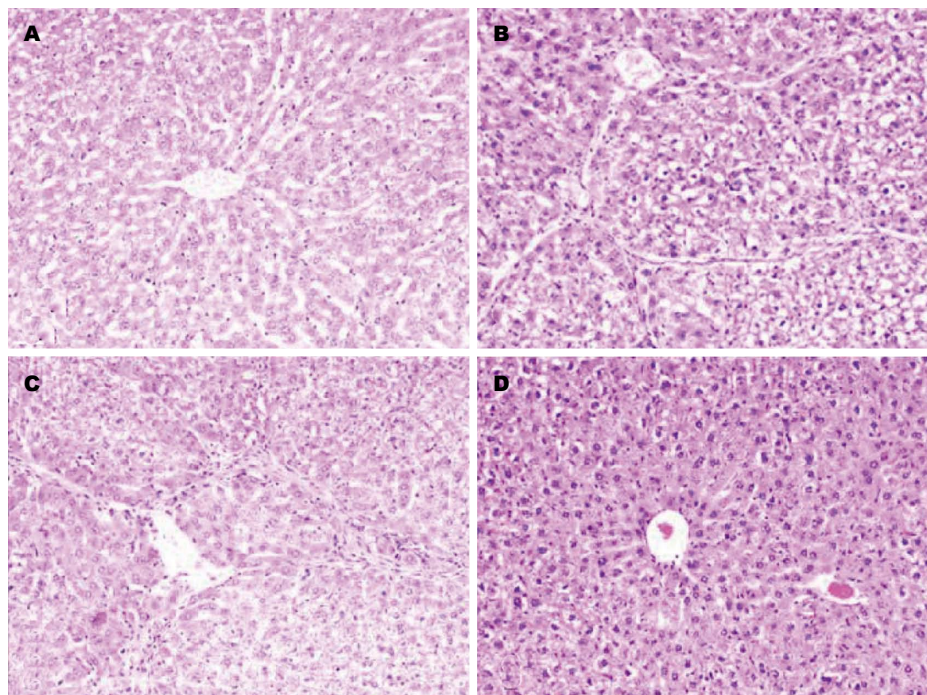


图1 各组大鼠肝组织病理图片(HE × 200). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组.

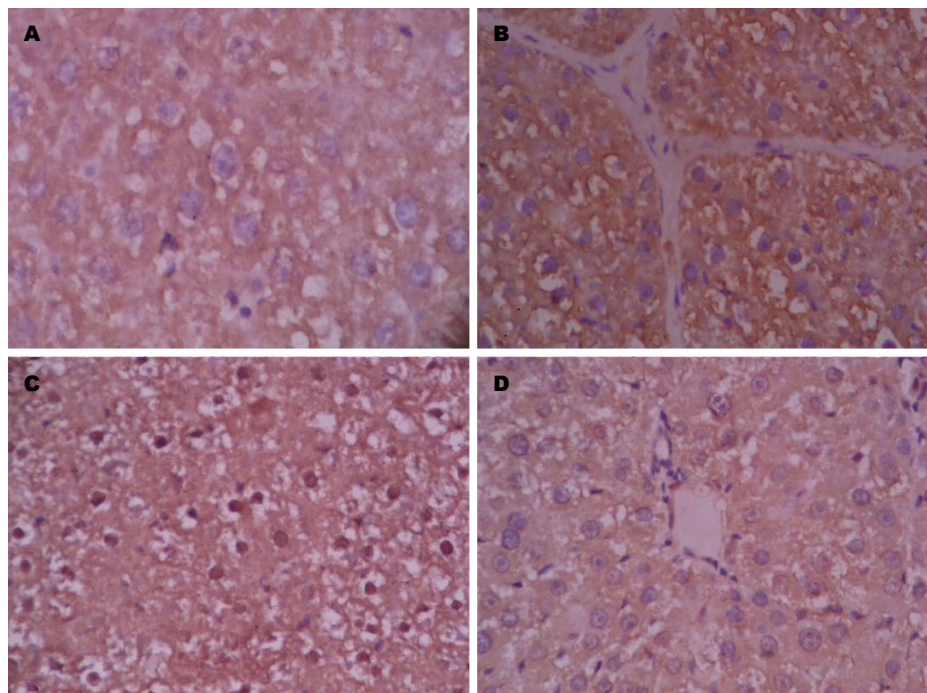


图2 TNF- α 在各组大鼠肝组织中的表达(× 400). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α .

3 讨论

建立合适的动物模型对研究肝纤维化形成的分子机制有着极其重要的作用. 本实验采用猪血清腹腔注射构建肝纤维化动物模型^[5]. 猪血清则是免疫性肝纤维化常用的异种抗原, 其中的白蛋白诱导机体产生相应的抗体, 形成抗原-抗体

复合物, 沉积于汇管区和间质组织, 通过免疫复合物介导的细胞毒反应活化枯否氏细胞(Kupffer cell, KC)而导致肝血管和间质组织结构的变化, 最终导致肝纤维化^[6]. 免疫法造模与临床上慢性肝炎所致肝纤维化和肝硬化在发病机制上较为相似. 本实验肝脏组织病理学结果显示肝细胞

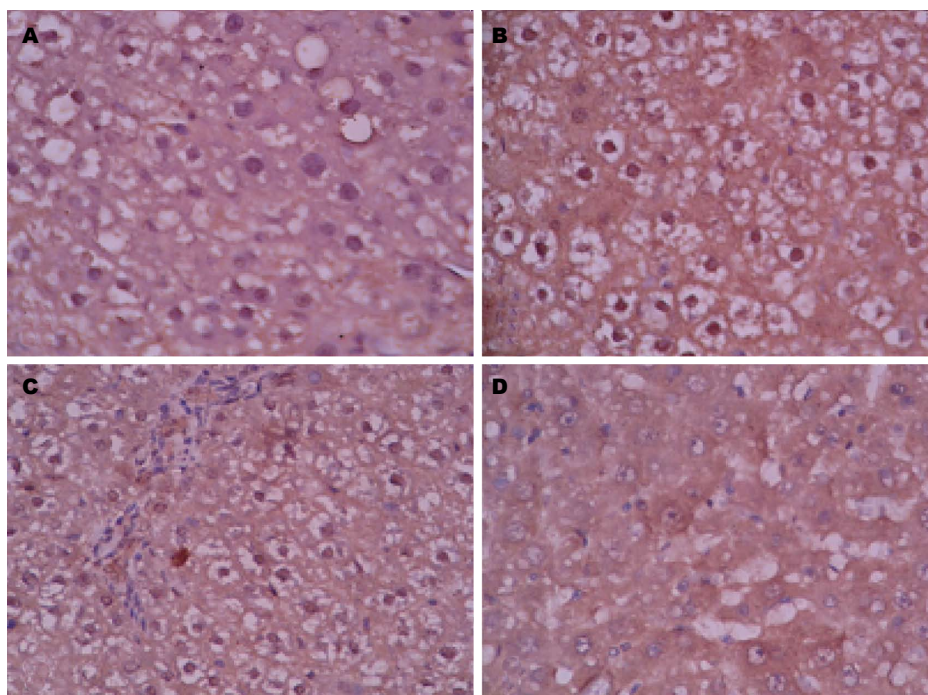


图 3 PDGF- β 在各组大鼠肝组织中的表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. PDGF- β : 血小板衍生生长因子- β .

■应用要点

rIL-10基因干预能有效拮抗猪血清诱导的大鼠肝纤维化形成, 其机制可能与其抑制肝组织中TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达相关, 为外源性IL-10基因干预治疗肝纤维化提供了一定的理论基础.

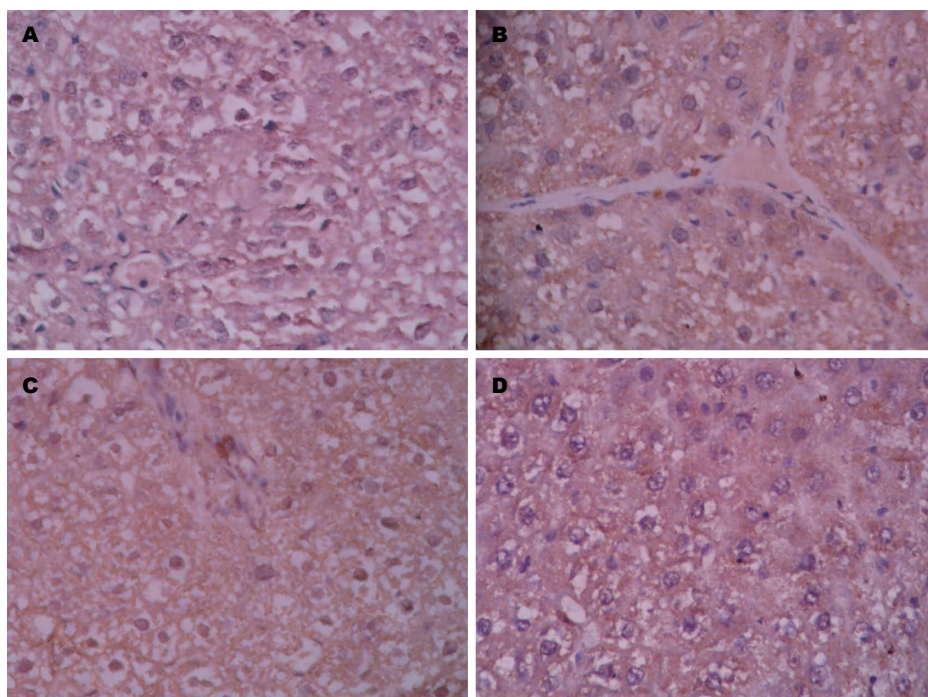


图 4 COX-2在各组大鼠肝组织中的表达($\times 400$). A: 正常对照组; B: 肝纤维化型组; C: 空质粒对照组; D: rIL-10质粒治疗组. COX-2: 环氧合酶-2.

有不同程度变性甚至坏死, 中性粒细胞和单核细胞浸润, 增生的纤维组织从汇管区沿肝细胞界板向内延伸形成粗细不等的纤维隔, 小叶结构紊乱, 假小叶形成, 表明构建猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型成功. 与以往经典CCl₄诱导的肝

纤维化模型相比, 猪血清诱导免疫性肝纤维化模型造模操作简单, 大鼠的死亡率低, 所致肝纤维化持久^[7].

IL-10由辅助T细胞亚群Th2细胞、B细胞、单核细胞、巨噬细胞、角质细胞和基质细胞等

■同行评价

本文选题新颖, 具有一定指导意义。

表 1 TNF- α 、PDGF- β 及COX-2在不同组间阳性表达情况的平均光密度值 (mean \pm SD)

分组	TNF- α	PDGF- β	COX-2
正常对照组	0.1860 \pm 0.0104	0.2514 \pm 0.0228	0.1987 \pm 0.0106
肝纤维化组	0.2206 \pm 0.0434 ^{bd}	0.2891 \pm 0.0417 ^{bd}	0.2174 \pm 0.0429 ^{bd}
空质粒对照组	0.2217 \pm 0.0518 ^{bd}	0.2818 \pm 0.0272 ^{bd}	0.2117 \pm 0.0221 ^{bd}
rIL-10质粒治疗组	0.2048 \pm 0.0124	0.2513 \pm 0.0165	0.1961 \pm 0.0142

^bP<0.01 vs N组; ^dP<0.01 vs I组. TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; PDGF- β : 血小板衍生生长因子- β ; COX-2: 环氧合酶-2.

在免疫激活状态下产生. 肝脏KC和活化的HSC也可产生IL-10. IL-10是一种具有多种生物学活性的抗炎性细胞因子, 近来研究显示其与肝纤维化的发生发展密切相关, Roulot等^[8]研究显示肝脏IL-10的表达缺失与肝纤维化的进展密切相关. 本研究生前期实验通过尾静脉高压注射法将rIL-10基因转移至肝纤维化大鼠体内, 结果显示rIL-10基因干预的肝纤维化肝脏组织炎症程度及纤维化程度较肝纤维化对照组明显减轻, 具有良好的拮抗肝纤维化形成的作用, 可能与尾静脉高压注射法可使rIL-10基因在肝组织中高表达IL-10相关^[9], 其具体的作用机制仍需进一步探讨.

肝脏炎症或损伤等因素除直接对肝细胞造成损害外, 损伤的肝细胞、KC、内皮细胞释放细胞因子, 如TNF- α 、转化生长因子 β 1、PDGF- β 、肝细胞生长因子、白细胞介素(IL-1、IL-6)等, 上述因子均能直接或间接地促进HSC的激活^[10]. TNF- α 是一种致纤维化细胞因子, 他可通过多种途径参与纤维化的调控: 一方面TNF- α 可直接促进HSC增殖、合成胶原和蛋白多糖; 另一方面TNF- α 作为炎性细胞因子, 可刺激KC等活化、释放更多的细胞因子如PDGF等, 后者活化HSC, 使其产生过量的ECM, 加重肝纤维化的进展^[11,12]. 本实验结果证实, 在肝纤维化时TNF- α 显著增高, rIL-10基因干预肝纤维化大鼠后, 肝脏组织中TNF- α 的表达明显降低. 其机制可能是肝组织高表达IL-10通过抑制炎性细胞因子TNF- α 的表达, 使后者致炎作用减轻的同时又能减轻对HSC的直接作用, 从而拮抗肝纤维化的进程.

PDGF是重要的促有丝分裂因子, 有 α 、 β 、 γ 等3种异构体, 其中以 β 作用最强, 且肝脏中表达以 β 为主. 在肝纤维化早期, 受到慢性炎症刺激, KC产生并持续释放PDGF- β , 刺激HSC的活化和

增殖, 转化为成纤维细胞, 并促使HSC迁移, 聚集于炎症受损区, 而活化的HSC又能分泌PDGF- β 并过量表达相应的受体, 从而导致ECM过量产生和沉积^[13]. 同时PDGF可上调组织金属蛋白酶抑制物抑制胶原酶的作用, 以减少ECM的降解^[14]. ECM合成和降解失衡的结果促进肝纤维化发生. 本实验结果证实, 在肝纤维化时PDGF- β 表达显著增高, rIL-10基因干预肝纤维化大鼠后, 肝组织中PDGF- β 的表达明显降低. 表明IL-10使肝纤维化的程度明显减轻可能与其显著抑制PDGF- β 的表达有着密切的联系. 其机制可能是IL-10通过抑制促有丝分裂因子PDGF- β 的表达, 从而使HSC的增殖和活化成成纤维细胞受到一定程度的抑制, 减少ECM的产生, 同时减轻对成纤维细胞的趋化作用, 使之无法到达损伤部位.

目前普遍认为COX-1在大多数组织中(胃、肾、血小板和内皮细胞)表达, 参与合成正常细胞活动所需的前列腺素; 而COX-2是经刺激迅速产生的诱导酶, 其催化合成的前列腺素参与炎症反应, 表达在单核、巨噬细胞、滑膜细胞、软骨细胞、成纤维细胞和内皮细胞等. 近来研究表明COX-2可能参与肝损伤的炎症反应, 调节HSC的增殖, 从而促进肝纤维化的形成和发展. Nanji等^[15]通过RT-PCR检测组织中COX的表达情况得出COX-2 mRNA在正常大鼠肝脏不表达, 而在小鼠正常肝组织中有低表达, 在急慢性肝损伤、酒精性脂肪肝中, 肝脏COX-2表达明显增高, 表达的细胞主要有KC、肝细胞、贮脂细胞等, 而KC为肝脏COX-2高表达的主要细胞来源. Guécho等^[16]研究显示慢性肝炎肝纤维化患者肝组织中COX-2表达明显上调, 血清透明质酸水平升高, 使用选择性COX-2抑制剂后二者水平均明显下降. Nieto等^[17]研究表明TNF- α 可通过COX-2的表达上调单核细胞趋化蛋白1, 促进肝损伤后炎症反应, 导致肝纤维化的发生. 本

实验结果证实,在肝纤维化时COX-2显著增高,*rIL-10*基因干预肝纤维化大鼠后,肝脏组织中COX-2的表达明显降低。机制可能是IL-10通过抑制COX-2的表达,一方面使HSC的增殖和活化受到一定程度的抑制;另一方面抑制前列腺素E-2生成,使基质金属蛋白酶组织抑制物合成减少,进而基质金属蛋白酶能够降解胶原、蛋白多糖等。

总之,重组*rIL-10*基因真核表达质粒尾静脉高压注射法能有效地抑制肝纤维化的发展,对肝纤维化形成具有一定的拮抗作用,此作用可能与*rIL-10*基因在肝组织中高表达有关及肝组织内高表达的IL-10可能通过直接或间接抑制或下调肝组织内TNF- α 、PDGF- β 和COX-2的表达从而抑制HSC的活化,促进I、III型胶原的降解,从而减少ECM堆积。

4 参考文献

- 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2000; 8: 687-689
- Jiang J, Yamato E, Miyazaki J. Intravenous delivery of naked plasmid DNA for in vivo cytokine expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 1088-1092 [PMID: 11741303 DOI: 10.1006/bbrc.2001.6100]
- 陈运新, 黄月红, 郑伟达, 陈治新, 王小众. 大鼠肝细胞对肝星状细胞增殖与活化的影响及其机制探讨. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 933-936
- 黄月红, 陈运新, 郑伟达, 张莉娟, 陈治新, 王小众. 肝脏靶向表达大鼠白介素-10基因对猪血清诱导的大鼠肝纤维化的抑制. 第三军医大学学报 2011; 33: 1353-1357
- Bhunchet E, Eishi Y, Wake K. Contribution of immune response to the hepatic fibrosis induced by porcine serum. *Hepatology* 1996; 23: 811-817 [PMID: 8666336 DOI: 10.1053/jhep.1996.v23.pm0008666336]
- Paronetto F, Popper H. Chronic liver injury induced by immunologic reactions. Cirrhosis following immunization with heterologous sera. *Am J Pathol* 1966; 49: 1087-1101 [PMID: 5297057]
- 刘秀英, 胡怡秀, 胡余明, 丘丰, 周月婵, 臧雪冰, 聂焱. 大鼠四氯化碳和猪血清肝纤维化模型比较. 世界华人消化杂志 2002; 10: 975-977
- Roulot D, Sevcik AM, Coste T, Strosberg AD, Marullo S. Role of transforming growth factor beta type II receptor in hepatic fibrosis: studies of human chronic hepatitis C and experimental fibrosis in rats. *Hepatology* 1999; 29: 1730-1738 [PMID: 10347115 DOI: 10.1002/hep.510290622]
- 黄月红, 陈运新, 陈治新, 王小众. 外源性rIL-10基因质粒静脉注射及其在大鼠体内表达. 中国药理学通报 2008; 24: 834-837
- Brito JM, Mermelstein CS, Tempone AJ, Borojevic R. Mast cells can revert dexamethasone-mediated down-regulation of stem cell factor. *Eur J Pharmacol* 2001; 414: 105-112 [PMID: 11231001 DOI: 10.1016/S0014-2999(01)00783-X]
- Faouzi S, Lepreux S, Bedin C, Dubuisson L, Balaud C, Bioulac-Sage P, Desmoulière A, Rosenbaum J. Activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes. *Lab Invest* 1999; 79: 485-493 [PMID: 10212001]
- Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106 [PMID: 10796885 DOI: 10.1053/he.2000.6126]
- Marra F, Gentilini A, Pinzani M, Choudhury GG, Parola M, Herbst H, Dianzani MU, Laffi G, Abboud HE, Gentilini P. Phosphatidylinositol 3-kinase is required for platelet-derived growth factor's actions on hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1997; 112: 1297-1306 [PMID: 9098016 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70144-6]
- Herbst H, Schuppan D, Milani S. [Fibrogenesis and fibrolysis in the liver]. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1995; 79: 15-27 [PMID: 8600680]
- Nanji AA, Miao L, Thomas P, Rahemtulla A, Khawaja S, Zhao S, Peters D, Tahan SR, Dannenberg AJ. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology* 1997; 112: 943-951 [PMID: 9041257 DOI: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041257]
- Guéchet J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 32: 447-452 [PMID: 10735615 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)80396-7]
- Nieto N, Greenwel P, Friedman SL, Zhang F, Dannenberg AJ, Cederbaum AI. Ethanol and arachidonic acid increase alpha 2(I) collagen expression in rat hepatic stellate cells overexpressing cytochrome P450 2E1. Role of H₂O₂ and cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 2000; 275: 20136-20145 [PMID: 10770928 DOI: 10.1074/jbc.M001422200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响

彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义

■背景资料

蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)被证实参与并维持了多种肿瘤的恶性生物学行为, 并已成为药物开发的研究热点之一。

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

江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

彭丰, 主要从事胆道胰腺肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, Nos. 81071775, 81172064, 81160311, 81001068, 81101621

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDA030

中国博士后科学基金面上资助项目, No. 2013M531983

作者贡献分布: 实验设计由彭丰与秦仁义完成; 数据获取由李旭、江建新、王敏、田锐及徐盟完成; 数据统计由郭兴军完成; 论文撰写由彭丰与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成。

通讯作者: 秦仁义, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心。 ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2013-06-26 修回日期: 2013-07-22

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1

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

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

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

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775, 81101621, 81160311, 81172064, and 81001068; the Key Project of Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDA030; the China Postdoctoral Science Foundation, No. 2013M5319834

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

Received: 2013-06-26 Revised: 2013-07-22

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of staurosporine (ST) on cell proliferation and apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1, and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: After Panc-1 cells were treated with

different concentrations of ST for different durations, cell proliferation was assessed by CCK-8 method, cell apoptosis was detected by Hoechst 33258 staining and flow cytometry, cell cycle distribution was investigated by flow cytometry, and expression of cyclin A, cyclin D1, Cdk4 and P21 proteins was detected by Western blot.

RESULTS: ST significantly inhibited the proliferation of Panc-1 cells ($P < 0.05$) in a concentration- and time-dependent manner. Treatment with ST significantly induced apoptosis of Panc-1 cells, and the apoptosis rate of Panc-1 cells treated with ST increased significantly compared with control cells ($P < 0.05$). Treatment with ST induced cell cycle arrest in G1 phase ($P < 0.05$). Moreover, ST treatment significantly decreased the expression of cyclin D1 and Cdk4 proteins and increased the expression of P21 protein in Panc-1 cells (all $P < 0.05$). Low concentrations of ST raised the expression of cyclin A in Panc-1 cells, while high concentrations of ST reduced the expression of cyclin A ($P < 0.05$).

CONCLUSION: ST significantly inhibits proliferation and induces apoptosis of Panc-1 cells possibly by inducing cell cycle arrest in G1 phase.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Staurosporine; Cell cycle; Cell apoptosis; Panc-1 cells

Peng F, Li X, Jiang JX, Wang M, Tian R, Xu M, Guo XJ, Qin RY. Staurosporine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cell line Panc-1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2578-2584
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2578.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2578>

摘要

目的: 探讨十字孢碱(staurosporine, ST)对人的胰腺癌细胞株Panc-1增殖和凋亡的影响及其机制。

方法: 采用CCK-8法检测ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用; Hoechst 33258荧光染色观察ST对Panc-1细胞凋亡形态的影响; 流式细胞术

■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属医院盛京医院

检测不同浓度ST对Panc-1细胞凋亡率和周期分布的影响; 蛋白质印迹法检测不同浓度ST对Panc-1细胞周期蛋白cyclin A、cyclin D1、Cdk4和P21表达的影响。

结果: ST对Panc-1细胞的增殖有明显抑制作用($P<0.05$), 并且这种抑制作用呈浓度和时间依赖性。Hoechst 33258荧光染色观察发现, ST能明显诱导Panc-1细胞出现典型的凋亡形态学改变。流式细胞术检测发现, 与对照组相比, ST可诱导Panc-1细胞凋亡率明显增加($P<0.05$), 并引起细胞周期阻滞于G₁期($P<0.05$)。蛋白质印迹法检测结果显示, Panc-1细胞经ST处理后cyclin D1、Cdk4蛋白表达明显降低($P<0.05$), P21蛋白表达则明显增加($P<0.05$); 低浓度ST上调Panc-1细胞中cyclin A的表达, 而高浓度ST则下调cyclin A的表达($P<0.05$)。

结论: ST可显著抑制胰腺癌Panc-1细胞增殖并诱导其凋亡, 其机制可能是通过阻滞细胞周期于G₁期, 进而抑制肿瘤细胞生长并促进细胞凋亡。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胰腺癌; 十字孢碱; 细胞周期; 细胞凋亡; Panc-1细胞

核心提示: 十字孢碱可通过阻滞胰腺癌Panc-1细胞周期于G₁期, 进而抑制其生长并促进细胞凋亡。

彭丰, 李旭, 江建新, 王敏, 田锐, 徐盟, 郭兴军, 秦仁义. 十字孢碱对胰腺癌Panc-1细胞增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2578-2584 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2578>

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的人类肿瘤之一, 尽管目前临床手术方式和各种综合治疗方法有所改进, 但患者的5年生存率却仍然没有显著提高^[1]。在我国, 胰腺癌的发病率也呈逐年上升趋势, 成为危害国人生命健康的主要疾病之一^[2]。蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员, 其在细胞内参与了广泛的信号传导过程, 对细胞的增殖、分化、血管生成和凋亡等的生物学过程均有一定调节作用^[3]。最近的研究表明, 蛋白激酶C在多种人类肿瘤中高表达, 其参与并维持了肿瘤的多种恶性生物学

特性, 是肿瘤转化中的重要信号分子^[4]。十字孢碱(staurosporine, ST)是由放线菌分离的生物碱, 是一种可以通透细胞膜的蛋白激酶C抑制剂。研究发现, ST可以导致多种肿瘤细胞的凋亡, 但ST对胰腺癌细胞的影响仍不是很清楚, 本研究以人胰腺癌Panc-1细胞为研究对象, 旨在研究ST对胰腺癌细胞增殖、凋亡等的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞系Panc-1购自中科院上海细胞库; 高糖DMEM培养液和胎牛血清购自美国Gibco公司; CCK-8试剂盒购自日本Dojindo公司; 碘化丙啶(propidium iodide, PI)、RNA酶(RNase A)和ST购自美国Sigma公司; ST用DMSO配制成浓度为1 mmol/L的原液并储存于-20℃, 实验时根据需要用高糖DMEM培养液将原液稀释成不同浓度的工作液; Annexin V/FITC凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司; Hoechst 33258细胞凋亡检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒和RIPA裂解液购自碧云天生物技术有限公司; 鼠抗人cyclin D1、Cdk4、P21和β-actin单克隆抗体购自美国Cell signal公司; 鼠抗人cyclin A单克隆抗体及辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠IgG二抗购自武汉博士德生物工程有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: Panc-1细胞用含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的高糖DMEM培养液, 置于37℃、CO₂体积分数为5%的饱和湿度细胞培养箱中培养, 0.25%胰蛋白酶溶液消化、传代。选用对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 CCK-8法检测细胞增殖抑制率: 取对数生长期的Panc-1细胞, 调整细胞密度为 2.0×10^4 个/mL接种于96孔培养板中, 每孔100 μL, 置于培养箱中培养, 待细胞完全贴壁后吸去培养液, 分别加入200 μL含0.025、0.05、0.10、0.25、0.50和1.00 μmol/L ST的培养液, 同时设立空白对照组及含有同等稀释度DMSO的阴性对照组, 每组设5个复孔。药物分别作用24和48 h后, 每孔加入10 μL CCK-8, 继续培养4 h后, 于酶标仪波长450 nm处读取吸光度(A)值。按公式计算细胞的增殖抑制率。抑制率%(inhibitory rate, IR) = (1-药物处理组平均A值/细胞对照孔平均A值) × 100%。同时根据公式计算细胞的半数抑制浓度(half inhibition concentration, IC₅₀), 以上实验重复3次。

■ 研发前沿

ST作为一种广谱的蛋白激酶C抑制剂, 其已被证实能有效抑制多种肿瘤细胞的生长并促进细胞凋亡, 但其与胰腺癌的相关研究目前仍未达成共识, 其生物学特性尚需要进一步研究证明。

■ 相关报道

Yanyan Wang证实ST可通过介导PKC- α 的抑制,诱导E-钙粘蛋白的表达从而抑制肺癌细胞的粘附、侵袭、迁移及远处转移。

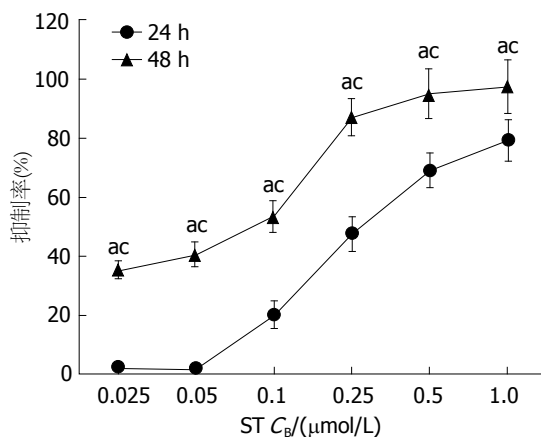


图1 CCK-8法检测不同时间梯度与浓度梯度下ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用. * $P < 0.05$ vs 相同时间点阴性对照组; $P < 0.05$ vs 相同作用浓度24 h作用组。

1.2.3 Hoechst 33258染色检测细胞凋亡: 将消毒灭菌后的盖玻片置于六孔板内, 接种处于对数生长期的Panc-1细胞 2×10^5 个/孔于盖玻片上. 置于培养箱中培养, 待细胞完全贴壁后吸去培养液, 加入含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h. 吸除细胞培养液, 并加入1 mL固定液, 固定10 min. 吸除固定液, PBS洗3遍, 每次5 min, 吸尽液体, 加入1 mL Hoechst 33258染色液, 染色5 min后封片, 于正置荧光显微镜下观察细胞形态并拍照. 以上实验重复3次。

1.2.4 Annexin V-FITC/PI双标法检测细胞凋亡: 取对数生长期Panc-1细胞接种于6孔板, 每孔接种 2×10^5 个细胞. 用含ST浓度分别为0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的培养液处理细胞24 h后, 按照凋亡试剂盒说明书进行以下操作. 消化收集细胞, PBS洗涤细胞2次(2000 r/min, 离心5 min), 每管收集约 1×10^5 个细胞; 加入500 μL 的Binding Buffer重悬细胞后, 再分别加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL Propidium iodide染料混匀, 室温避光反应15 min, 于1 h内上流式仪检测细胞凋亡情况并采用CellQuest软件分析实验结果. 以上实验重复3次。

1.2.5 流式细胞术检测细胞周期: 取对数生长期的Panc-1细胞, 按每孔 2×10^5 个细胞密度接种于6孔板中, 培养24 h后换成含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h; 胰酶消化、收集细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的PBS洗2次, 用200 μL PBS重悬细胞, 缓慢滴入1 mL预冷的无水乙醇, 于-20 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜; 之后离心(1000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心5 min)收集细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷

的PBS洗2次并重悬于500 μL PBS中, 然后加入终浓度为50 $\mu\text{g/mL}$ 的RNA酶(RNase A)及碘化丙啶(PI)于室温避光反应30 min, 流式仪检测细胞周期分布. 采用CellQuest和ModFit软件分析实验结果, 以上实验重复3次。

1.2.6 蛋白质印迹法检测相关蛋白的表达: 取对数生长期的Panc-1细胞, 按每孔 2×10^5 个细胞密度接种于6孔板中, 培养24 h后换成含有不同浓度(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)ST的培养液, 继续培养24 h; 胰酶消化、收集细胞, 加入RIPA裂解液及蛋白酶抑制剂, 冰上孵育30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g , 离心20 min. 取上清保存于-80 $^{\circ}\text{C}$. BCA法测定蛋白浓度, 以50 μg 蛋白/泳道上样, 12%的SDS-PAGE电泳分离, 电泳结束后将胶上蛋白电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上; 于5%的脱脂奶粉中室温振荡封闭2 h; 分别加入一抗(稀释比例均为1:500)于杂交袋中4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 次日用TBS-T洗膜3次, 每次15 min, 室温孵育二抗(1:3000)1 h; TBS-T洗膜3次, 每次10 min; 采用增强化学发光(ECL)法进行显色、曝光. 采集图像后用图像分析软件Quantity One进行灰度分析; 以目的蛋白与内参照蛋白(β -actin)的相对表达量, 即目的蛋白与内参照蛋白的比值进行半定量分析. 以上实验重复3次。

统计学处理 采用SPSS16.0软件作统计处理, 计量数据以mean \pm SD表示. 不同处理组间差异采用单因素方差分析或Dunnett t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ST对Panc-1细胞增殖的影响 CCK-8检测结果显示, 随着ST药物浓度的增加, Panc-1细胞的增殖抑制率也逐渐增强, 实验组与对照组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 而同一浓度的ST作用48 h与24 h相比, 细胞增殖抑制率亦逐渐增强, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 提示ST对Panc-1细胞的增殖抑制作用呈浓度依赖性和时间依赖性(图1). 分别计算ST作用24和48 h的 IC_{50} 值分别为 $0.31 \mu\text{mol/L} \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$ 和 $0.07 \mu\text{mol/L} \pm 0.01 \mu\text{mol/L}$ 。

2.2 ST对Panc-1细胞凋亡形态学的影响 Hoechst 33258荧光染色结果显示, ST作用24 h后可见Panc-1细胞核边缘不规则, 染色质凝集, 并伴有核固缩、核碎裂等典型的凋亡改变; 而未用ST干预的Panc-1细胞核形态规则、染色质均匀, 未见明显凋亡改变. 因此, 从胞核形态变化及荧光

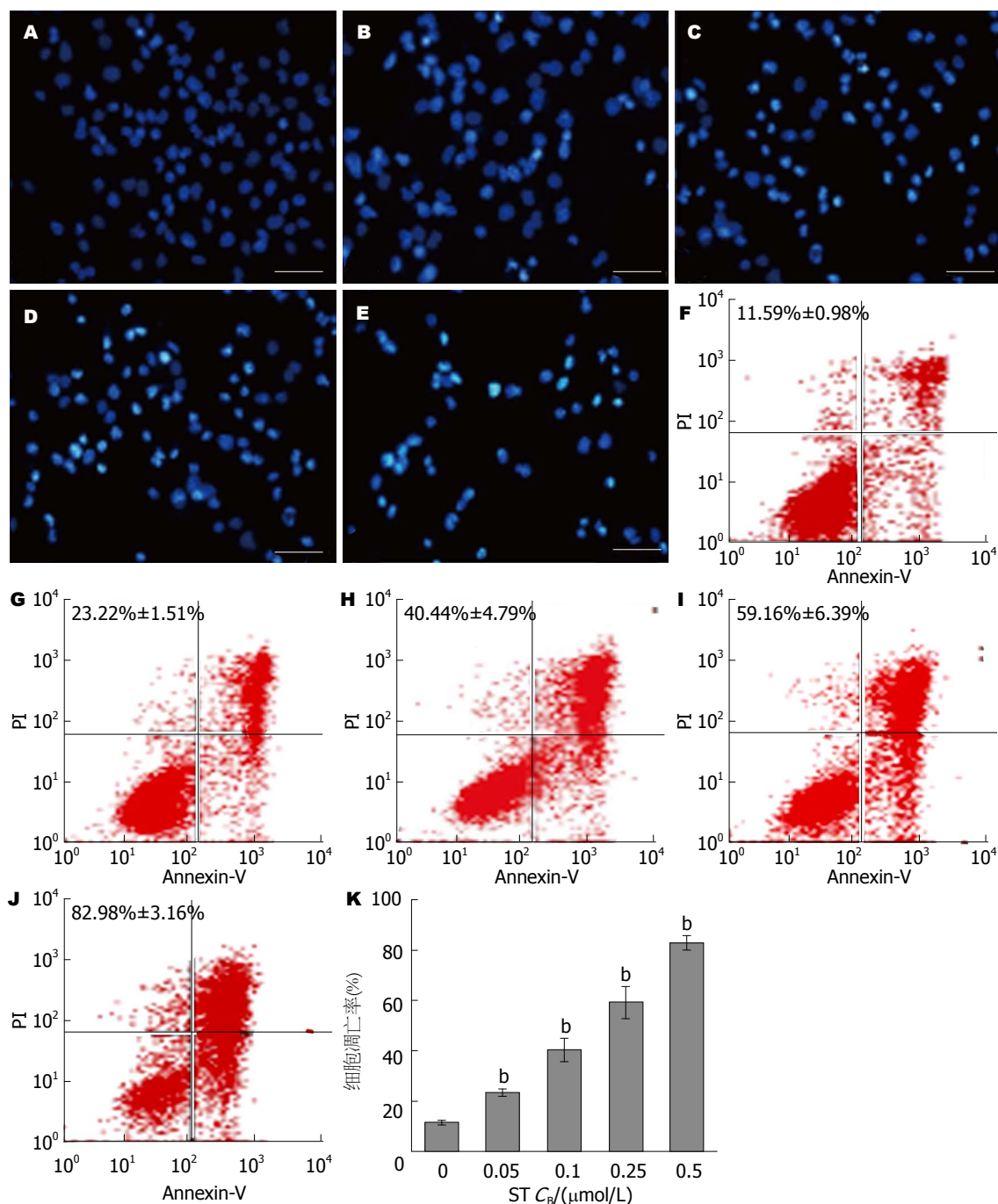


图 2 十字孢碱对Panc-1细胞凋亡形态及凋亡率的影响. 不同浓度ST作用下panc-1细胞核形态学改变. A: 0 $\mu\text{mol/L}$; B: 0.05 $\mu\text{mol/L}$; C: 0.1 $\mu\text{mol/L}$; D: 0.25 $\mu\text{mol/L}$; E: 0.5 $\mu\text{mol/L}$. 不同浓度ST作用下panc-1细胞凋亡率变化. F: 0 $\mu\text{mol/L}$; G: 0.05 $\mu\text{mol/L}$; H: 0.1 $\mu\text{mol/L}$; I: 0.25 $\mu\text{mol/L}$; J: 0.5 $\mu\text{mol/L}$. K: panc-1细胞凋亡率量化统计图. ^b $P < 0.01$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组.

强度可看出, 随着ST浓度的增加, 细胞凋亡比例亦逐渐增加(图2A-E).

2.3 ST对Panc-1细胞凋亡率的影响 Annexin V-FITC/PI双标法检测结果显示, 不同浓度的ST(0、0.05、0.1、0.25和0.5 $\mu\text{mol/L}$)分别作用Panc-1细胞24 h后, 其凋亡率分别为 $11.59\% \pm 0.98\%$ 、 $23.22\% \pm 1.51\%$ 、 $40.44\% \pm 4.79\%$ 、 $59.16\% \pm 6.39\%$ 和 $82.98\% \pm 3.16\%$, 表明随着药物浓度的增加, 细胞凋亡率亦逐渐上升, 实验组

与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)(图2F-K).

2.4 ST对Panc-1细胞周期分布的影响 流式细胞术检测结果显示, 作用24 h后, 随着ST药物浓度的升高, Panc-1细胞的S期细胞比例依次下降, 而 G_0/G_1 期细胞比例依次增加. 与对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$). 表明ST作用24 h后, Panc-1细胞被阻滞于 G_1 期(图3).

2.5 ST对相关蛋白表达的影响 蛋白质印迹法检

■创新盘点

本文首次证实了十字孢碱在胰腺癌细胞增殖凋亡方面的生物学作用, 并初步阐明其是通过阻滞细胞周期于 G_1 期来发挥其抑制作用.

■应用要点

本文为进一步研究十字孢碱对胰腺癌的生物学调控作用提供了理论基础,为进一步的蛋白激酶C相关药物开发提供了理论依据。

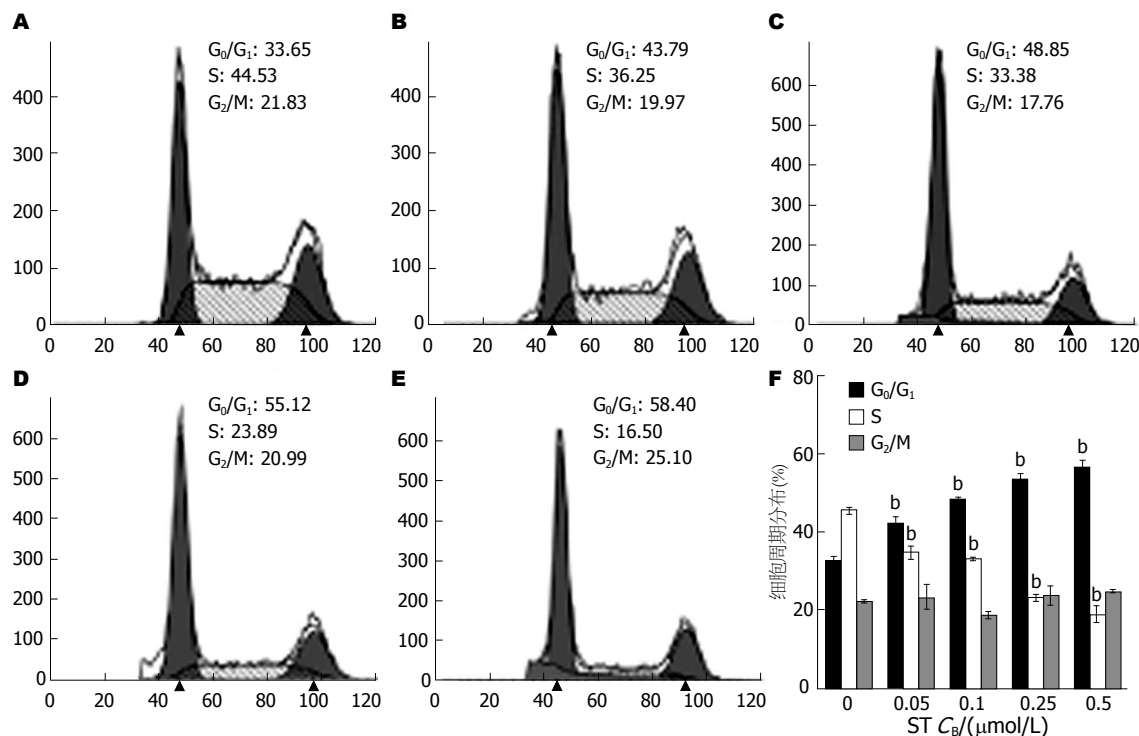


图3 流式细胞术检测不同浓度ST作用24 h后对Panc-1细胞周期分布的影响。A: 0 μmol/L; B: 0.05 μmol/L; C: 0.1 μmol/L; D: 0.25 μmol/L; E: 0.5 μmol/L; F: 不同浓度ST作用24 h后对Panc-1细胞周期分布的影响量化统计图, $P < 0.01$ vs 0 μmol/L浓度组。

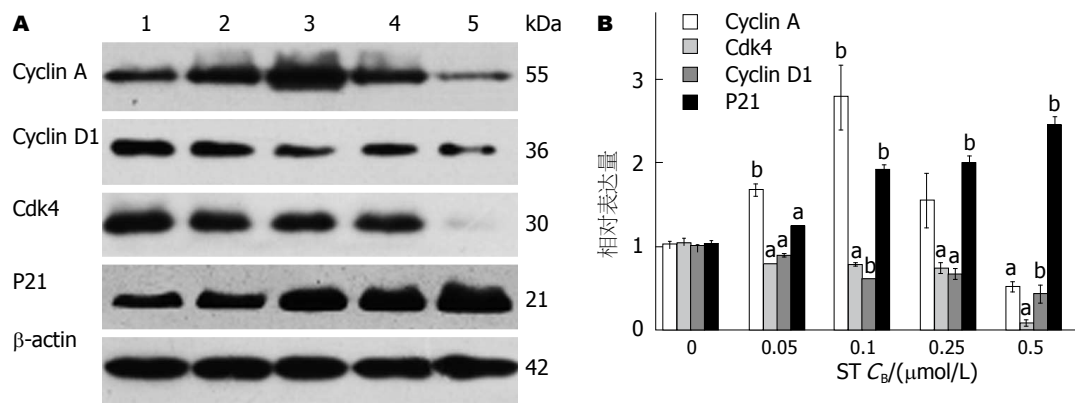


图4 蛋白质印迹法检测不同浓度ST作用24 h后对panc-1细胞周期相关蛋白表达的影响。A: 泳道1-5分别代表作用浓度0、0.05、0.1、0.25、0.5 μmol/L; B: 蛋白质印迹法量化统计图, $^a P < 0.05$ vs 0 μmol/L浓度组; $^b P < 0.01$ vs 0 μmol/L浓度组。

测结果显示, 作用24 h后, 随着ST药物浓度的升高, 各组内参蛋白β-actin的条带亮度相似, 而cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平逐渐下降; cyclin A在低浓度ST作用时表达量升高, 在高浓度ST作用后表达水平亦显著下降; P21蛋白的表达水平则随着药物浓度的增加而逐渐升高(图4)($P < 0.05$)。

3 讨论

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 近年来其发病率呈逐年上升趋势。研究表明, 胰腺癌的发

生和发展与多种因素相关, 而肿瘤细胞的异常增殖和凋亡抵抗特性在其中起到重要作用^[5,6]。

一般当正常细胞受到各种凋亡诱导因素刺激后, 可启动多种凋亡途径并激活凋亡相关的蛋白酶, 这些蛋白酶可将细胞内的重要蛋白降解, 引起细胞凋亡。而在肿瘤细胞中, 正常的凋亡通路调控发生紊乱, 导致细胞产生凋亡抵抗, 从而引起肿瘤细胞的恶性增殖^[5]。同样, 研究表明肿瘤细胞的增殖与其细胞周期之间关系密切。按照细胞周期的概念, 增殖细胞包括G₁期、S期、G₂期和M期的所有细胞, 而调控这种细胞周

期的过程存在2个关键点, 即G₁/S期转换和G₂/M期转换; 其中G₁/S期转换是控制细胞周期长短的限速期, 而G₂/M期转换则是控制细胞分裂增殖的重要阶段^[6]。包括人类肿瘤在内的所有真核细胞中, 细胞周期蛋白A(cyclin A)是S期和G₂/M期的重要作用蛋白, 他的生成和降解与肿瘤的恶性增殖密切相关^[7]; 细胞周期蛋白D1(cyclin D1)是G₁期到S期的关键调控蛋白, 其异常表达见于多种人类肿瘤中^[8]; 周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent protein kinases, Cdk)能不可逆地引发细胞周期转变, 其中Cdk4与cyclin D1结合形成复合物, 在G₁期的演进中同样起着重要作用^[9]。而P21是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKIs)家族成员之一, 能与cyclin/Cdk复合物结合并抑制其功能, 是G₁期的主要抑制蛋白^[10]。

蛋白激酶C主要由N端的调节区与C端的催化区组成。研究表明, 蛋白激酶C与肿瘤的增殖和凋亡等生物学特性密切相关^[4]。ST是一种广谱的蛋白激酶C抑制剂, 主要作用于C端的催化区, 其与ATP竞争结合蛋白激酶C的ATP结合位点而发挥抑制作用。通过对人类多种肿瘤的研究发现, ST能够有效抑制肿瘤细胞的生长并促进细胞凋亡^[11-13], 然而目前关于ST对胰腺癌细胞增殖、凋亡的影响尚不清楚。本研究通过CCK-8体外增殖实验、细胞凋亡形态学观察、流式细胞术和蛋白质印迹等检测方法, 发现ST对人胰腺癌Panc-1细胞有显著的生长抑制作用, 且这种效应随着药物浓度的增加和作用时间的延长而增强; 同时, 在ST作用后, Panc-1细胞可出现典型的凋亡形态学改变, 凋亡率明显高于未加药组。

有文献报道ST能诱导细胞周期阻滞于G₂/M期或G₁期^[13,14]。本研究发现, 低浓度ST(0.05 μmol/L)作用24 h后即可诱导Panc-1细胞的S期比例下降, 而G₀/G₁期细胞比例增加; 同时, 蛋白质印迹法检测结果也显示低浓度ST(0.05 μmol/L)作用24 h后, cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平下降, 而p21蛋白的表达水平升高, 这与细胞周期分布的结果一致, 提示细胞被阻滞于G₁期。随着ST浓度的增加, Panc-1细胞的S期比例依次下降, G₀/G₁期比例依次增加; 而与之相对应, cyclin D1和Cdk4蛋白表达水平亦依次递减, P21蛋白的表达水平依次升高; 但cyclin A蛋白表达水平在低浓度ST作用时表达量升高, 但在高浓度ST作用后表达水平下降, 考虑可能是细胞为通过G₁期

的一种代偿性上调。

总之, 本研究从体外实验证明ST能够有效抑制胰腺癌Panc-1细胞的增殖并诱导其凋亡, 其作用机制可能是通过阻滞细胞周期于G₁期, 进而抑制肿瘤细胞生长并促进其凋亡, 但具体调节机制尚不清楚, 还需进一步研究。目前, 蛋白激酶C已成为抗肿瘤药物研究中的重要靶点, 其抑制剂十字孢碱有可能成为胰腺癌化疗中起重要作用的药物之一^[15]。

4 参考文献

- 1 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
- 2 马臣, 姜永晓, 刘曙正, 全培良, 孙喜斌, 郑荣寿, 张思维, 陈万青. 中国胰腺癌发病趋势分析和预测. *中华流行病学杂志* 2013; 02: 160-163
- 3 Deacon EM, Pongracz J, Griffiths G, Lord JM. Isoenzymes of protein kinase C: differential involvement in apoptosis and pathogenesis. *Mol Pathol* 1997; 50: 124-131 [PMID: 9292146]
- 4 Mackay HJ, Twelves CJ. Protein kinase C: a target for anticancer drugs? *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 389-396 [PMID: 14503915]
- 5 Arlt A, Muerkoster SS, Schäfer H. Targeting apoptosis pathways in pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2013; 332: 346-358 [PMID: 21078544 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.015]
- 6 Schwartz GK, Shah MA. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9408-9421 [PMID: 16361640 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.5594]
- 7 Yasmeen A, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. E- and A-type cyclins as markers for cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3: 617-633 [PMID: 14510182 DOI: 10.1586/14737159.3.5.617]
- 8 Guo SS, Wu X, Shimoide AT, Wong J, Moatamed F, Sawicki MP. Frequent overexpression of cyclin D1 in sporadic pancreatic endocrine tumours. *J Endocrinol* 2003; 179: 73-79 [PMID: 14529567]
- 9 Ikehara M, Oshita F, Ito H, Ohgane N, Suzuki R, Saito H, Yamada K, Noda K, Mitsuda A, Kameda Y. Expression of cyclin D1 but not of cyclin E is an indicator of poor prognosis in small adenocarcinomas of the lung. *Oncol Rep* 2003; 10: 137-139 [PMID: 12469159]
- 10 Sugimoto M, Martin N, Wilks DP, Tamai K, Huot TJ, Pantoja C, Okumura K, Serrano M, Hara E. Activation of cyclin D1-kinase in murine fibroblasts lacking both p21(Cip1) and p27(Kip1). *Oncogene* 2002; 21: 8067-8074 [PMID: 12444543 DOI: 10.1038/sj.onc.1206019]
- 11 Qiao L, Koutsos M, Tsai LL, Kozoni V, Guzman J, Shiff SJ, Rigas B. Staurosporine inhibits the proliferation, alters the cell cycle distribution and induces apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Cancer Lett* 1996; 107: 83-89 [PMID: 8913270]
- 12 Yamasaki F, Hama S, Yoshioka H, Kajiwara Y, Yahara K, Sugiyama K, Heike Y, Arita K, Kurisu K. Staurosporine-induced apoptosis is independent

■同行评价

本文立题有一定新意, 实验设计合理, 数据翔实准确, 论文逻辑性较强, 研究结果有助于进一步明确胰腺癌细胞增殖及凋亡的调控机制, 具有较好的科学价值。

- of p16 and p21 and achieved via arrest at G2/M and at G1 in U251MG human glioma cell line. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51: 271-283 [PMID: 12721754 DOI: 10.1007/s00280-002-0562-z]
- 13 Sarkar J, Singh N, Meena S, Sinha S. Staurosporine induces apoptosis in human papillomavirus positive oral cancer cells at G2/M phase by disrupting mitochondrial membrane potential and modulation of cell cytoskeleton. *Oral Oncol* 2009; 45: 974-979 [PMID: 19502099 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2009.04.009]
 - 14 Zhou W, Lin Y, Wersto R, Chrest J, Gabrielson E. Staurosporine-induced G(1) arrest in cancer cells depends on an intact pRB but is independent of p16 status. *Cancer Lett* 2002; 183: 103-107 [PMID: 12049820]
 - 15 El-Rayes BF, Ali S, Philip PA, Sarkar FH. Protein kinase C: a target for therapy in pancreatic cancer. *Pancreas* 2008; 36: 346-352 [PMID: 18437080 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815ceaf7]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

兔肛门直肠三维有限元模型的建立

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 郑鸣霄, 福建中医药大学附属第二人民医院肛肠科 福建省福州市 350003

陈日齐, 福州大学 福建省福州市 350108

柯敏辉, 主治医师, 中西医结合临床硕士, 主要从事肛肠疾病防治与研究.

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81173272

作者贡献分布: 模型由柯敏辉与叶玲设计; 研究由柯敏辉、叶玲、陈立武及郑鸣霄共同完成; 由陈日齐指导; 论文写作由柯敏辉完成.

通讯作者: 叶玲, 主任医师, 350003, 福建省福州市湖东支路13号, 福建中医药大学附属第二人民医院肛肠科.

yeling0223@163.com

电话: 0591-87878197

收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-14

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum

Min-Hui Ke, Ling Ye, Li-Wu Chen, Ri-Qi Chen, Ming-Xiao Zheng

Min-Hui Ke, Ling Ye, Li-Wu Chen, Ming-Xiao Zheng, the Second People's Hospital of Fujian Province, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

Ri-Qi Chen, Fuzhou University, Fuzhou 350108, Fujian Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173272

Correspondence to: Ling Ye, Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, the Second People's Hospital of Fujian Province, 13 Hudongzhi Road, Fuzhou 350003, Fujian Province, China. yeling0223@163.com

Received: 2013-06-06 Revised: 2013-07-14

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To establish a 3D finite element model of the rabbit anorectum.

METHODS: A one-month male New Zealand rabbit was selected. Anatomical and pathological data were first measured, including the thickness and lumen diameter of the anorectum. Based on the obtained data, the coordinates, the origin and contour line were depicted on the graph. The three-dimensional coordinate (X-, Y-, Z-axes) values for the model of each node were determined. In the coordinate system, the element and node were divided based on the

principles of finite discrete. Subsequently, different parts of the rabbit anorectum tissue were isolated to measure the mechanical parameters (e.g., Young's modulus and Poisson's ratio). A model was finally developed by inputting the above data to SUPER-SAP finite element software.

RESULTS: By measuring the Young's modulus and the Poisson's ratio of different parts of the rabbit anorectum tissue, a 3D finite element model of the rabbit anorectum, which contained 1342 units and 1800 nodes, was successfully established.

CONCLUSION: A 3D finite element model of the rabbit anorectum with realistic appearance and calculation accuracy has been successfully developed, and this model can provide theoretical guidance for studying the etiology, diagnosis and treatment of anorectal diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rabbit; Anorectum; Biomechanics; Finite element model

Ke MH, Ye L, Chen LW, Chen RQ, Zheng MX. Establishment of a 3D finite element model of the rabbit anorectum. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2585-2589 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2585>

摘要

目的: 建立兔肛门直肠三维有限元模型.

方法: 选取1只1月龄♂新西兰兔. 先观测兔直肠肛门的厚度、管径等解剖病理学数据, 根据这些数据, 在模型图上描绘坐标、原点和模型轮廓线, 确定模型的各节点在三维空间的X、Y、Z轴上的坐标值, 在坐标系内按有限离散原则划分单元与节点. 然后分离兔肛门直肠不同层面的组织, 运用力学仪器测算各层面的杨氏弹性模量、泊松比等力学参数. 最后将这些数值输入SUPER-SAP有限元软件建模.

结果: 测得正常兔肛门直肠不同层面组织的

■背景资料

探求为肛门直肠疾病的诊断和疗效评估提供客观理论指导的方法. 有限元模型符合这一需求, 他能够通过虚拟建模直观反映宏观结构的变化. 本文将建立兔肛门直肠有限元模型.

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■研究前沿

将有限元运用于软组织的研究,首次建立兔肛门直肠三维有限元模型,有助于肛门直肠疾病的深入研究.利用兔替代人作为研究对象,具有可重复率高、不受伦理约束以及模型可控性强等优点.

杨氏弹性模量、泊松比,建成含1342个单元、1800个节点的兔肛门直肠有限元模型.

结论: 建立外形和几何结构逼真、生物材料接近正常组织的兔肛门直肠有限元模型,阐述一种建立软组织有限元模型的思路和方法,为肛门直肠疾病的病因、诊断、治疗等提供理论指导.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 兔; 肛门直肠; 生物力学; 有限元模型

核心提示: 运用SUPER-SAP有限元软件,建立兔肛门直肠三维有限元模型,为肛门直肠疾病的病因、诊断、治疗等提供理论指导.测算肛门直肠组织力学参数的方法有助于未来软组织力学参数的研究.

柯敏辉, 叶玲, 陈立武, 陈日齐, 郑鸣霄. 兔肛门直肠三维有限元模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2585-2589
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2585.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2585>

0 引言

生物力学的起源要追溯至人类文明之端,在人类对人体解剖尚未深入了解时,已经开始对人体的内部结构进行分析.三维有限元法作为一种有效手段,在生物力学研究中应用越来越广泛^[1].在我国传统应用于口腔医学和骨科学^[2,3].目前有限元分析法对人体软组织的研究在国内外尚处于初级阶段,但发展极其迅速^[4].为精确深入研究肛门直肠疾病,我们首次建立兔肛门直肠三维有限元模型,将肛门直肠疾病的研究带入一个新的领域,加深对肛门直肠疾病在发生发展机制、诊断与治疗方面的认识.

1 材料和方法

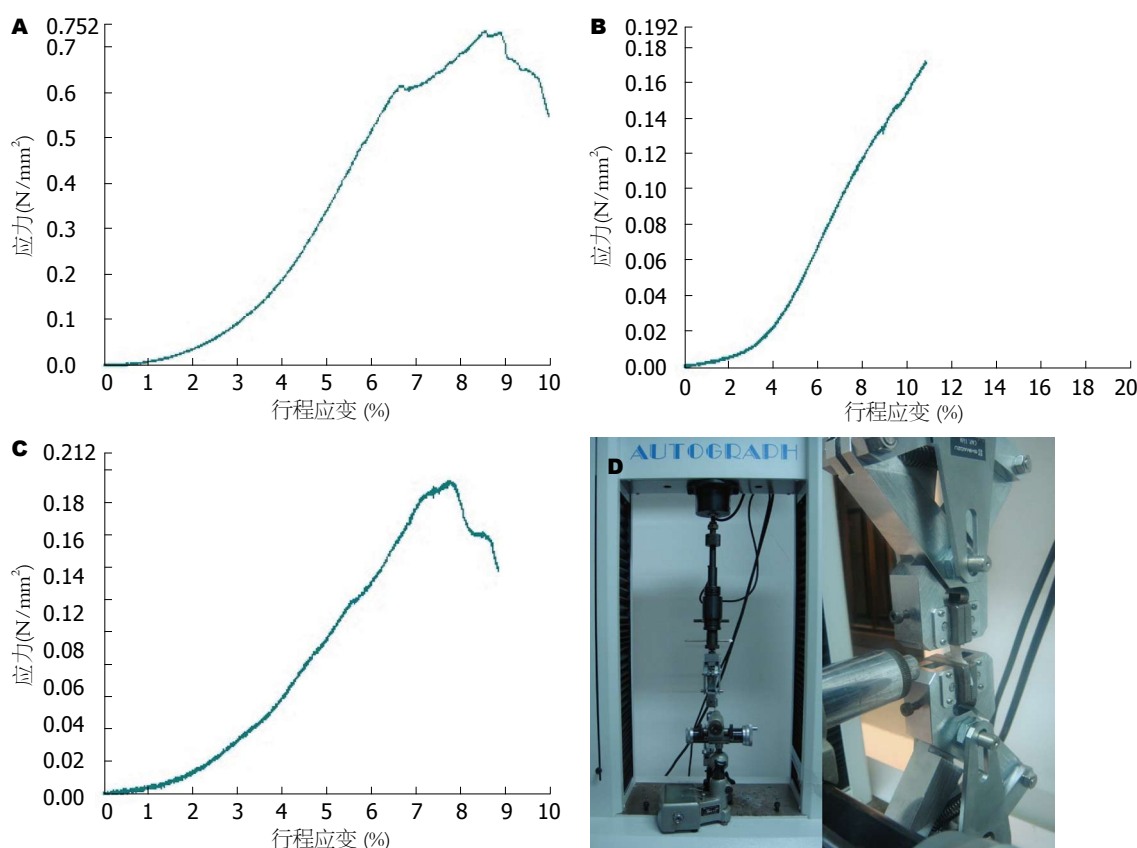
1.1 材料 万能材料试验机(AGIC-50KN,最小感量为1 g)、50倍读数显微镜、SUPER-SAP有限元软件、win7系统计算机:由福建中医药大学骨重建生物力学实验室提供.1月龄♂新西兰兔:由上海松联实验动物养殖场提供,许可证号:scxk(沪)2007-0011.

1.2 方法

1.2.1 数据采集: 鉴于兔肛门直肠壁薄、体积小、成像效果不理想等特殊特性,磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、CT难以显示兔肛门直肠的具体构造.本研究通过解剖1只

1月龄♂新西兰兔掌握其肛门直肠的构造.沿兔耳缘静脉注射水合氯醛麻醉后,用20 mL针筒抽取尚未凝固的口腔科石膏水溶剂10 mL注入兔肛门.石膏在直肠腔内凝固(约10 min)后将兔解剖.以组织剪于肛管直肠外缘周围分离肛管直肠,腹侧分离至坐耻骨合缝下缘,左右两侧分离至坐骨缘,背侧分离至尾骨与荐骨交会处.以刀全程切开坐耻骨合缝至耻骨上缘,钝性分离直肠与髌骨、荐骨之间的组织.平行耻骨上缘切断分离直肠,钝性剥离附着于肛门直肠壁上的组织.取肛门直肠组织进行测量分析.采集数据如下:肛门直肠腔左右对称,兔直肠经石膏固定在腹侧耻骨下缘处有一弯曲,由耻骨约束引起,弯曲角度为145度,直肠上端设置为固定端.直肠壁上取3处,用50倍读数显微镜测量兔直肠壁的厚度分别为2.39、2.41、2.40 mm,取平均值2.40 mm.同法测量肛门的厚度为3.00 mm,肛门直肠的管径为5.20 mm.前期取6只正常兔直肠组织行HE染色,发现兔直肠的显微结构与人相似,直肠壁分为黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层四层.其中黏膜层约占直肠壁厚度的3/10,黏膜下层约占2/10,肌层约占4/10,浆膜层约占1/10.

1.2.2 力学参数的测定: (1)取材,受兔直肠组织生理结构的限制,直肠黏膜层与黏膜下层间、肌层与浆膜层间排列紧密,无法分离.本研究取材分为3部分:肛门、直肠黏膜层与黏膜下层、直肠肌层与浆膜层.用特制刀片于兔肛门直肠剖取所需组织后即行力学测试,以便获得准确的数据;(2)测材质,测算所取组织的杨氏弹性模量与泊松比等力学参数.以测算直肠黏膜层与黏膜下层的力学参数为例:在所取组织的纵轴中段上取a、b两点,在a、b两点间组织横向上取c、d两点.先用50倍读数显微镜读取静止状态下a、b两点间直肠黏膜的长度(L1,单位:cm)与c、d两点的宽度(L2,单位:cm),然后用50倍读数显微镜读取直肠黏膜层与黏膜下层的厚度,将上述测量的数据输入万能材料试验机的计算机.组织两端固定于万能材料试验机的夹板上后(该组织较薄可先平铺于薄纸上,待两端固定于夹板后将薄纸于纸中间位置撕断),将组织往两端行最长拉伸,记录最长拉伸所用的力(P,单位:N)与行最长拉伸时黏膜的横截面积(A,单位:cm²),记录拉伸后a、b两点黏膜的长度(L3,单位:cm)与宽度(L4,单位:cm),计算拉伸前后长度的改变 $\Delta L1$ ($\Delta L1 = L3 - L1$,单位:cm)与宽度的改变 Δ



■创新盘点
首次建立兔肛门直肠三维有限元模型, 运用万能材料试验机测得肛门直肠组织的力学参数。

图1 兔肛门直肠各部分组织应力与应变图及测试所需主要仪器。A: 兔直肠黏膜层与黏膜下层应力与应变图; B: 兔肛门应力与应变图; C: 兔直肠肌层与浆膜层应力与应变图; D: 万能材料试验机与50倍读数显微镜。

L2($\Delta L2 = L2-L4$, 单位: cm)。实验中万能材料试验机的计算机将实时自动显示应力与应变的关系曲线(如图1A)。将曲线上的值代入公式即可获得力学参数, 公式具体如下: 杨氏弹性模量(E, 单位: MPa): $E = (P/A) \times (\Delta L1/L1)$; 泊松比(μ): $\mu = (\Delta L1/L1) / (\Delta L2/L2)$ 。同法测算肛门、直肠肌层与浆膜层的力学参数(他们的应力与应变曲线如图1B, C)。

1.2.3 建模: 有限元模型采用6面体8个节点三维计算模式, 每个节点有沿X、Y、Z轴的3个方向平移和绕此三轴3个方向转动的6个自由度, 建立以XY平面为水平面、XZ平面为冠状面、YZ平面为矢状面, X轴由左向右为正方向、Y轴由后向前为正方向、Z轴由下向上为正方向的三维坐标体系。根据采集的数据, 绘制15张模型平面图(根据研究需要, 目前建立肛门与直肠下段有限元模型)。在模型图上按20倍放大, 描绘坐标、原点和模型轮廓线。这样模型的各节点在三维空间的X、Y、Z轴上的坐标值即可确定。在坐标系内按有限离散原则划分单元与节点。将直肠壁根据比例分为黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层四层, 肛门为一整体。然后把每个节

点的X、Y、Z值从下往上输入国内常用的有限元SUPER-SAP软件平台^[5], 同时输入所测得各部分组织的力学参数, 即完成建模(图2)。

2 结果

测得兔肛门直肠各部分的力学参数如表1。

建立含1342个单元、1800个节点的兔肛门直肠有限元模型(图3)。图3B中3种颜色代表不同部位的组织, 以便于应力分析。红色代表直肠肌层与浆膜层, 黄色代表直肠黏膜层与黏膜下层, 绿色代表肛门。

3 讨论

三维有限元模型被认为是模拟软组织形变最经典的方法^[6], 正逐渐应用于肛门直肠疾病的研究。国外: 2003年, Janda等^[7]利用一具无盆底病变的女性尸体标本, 建立世界上首个基于解剖的盆底肛提肌三维有限元模型和模型数据库。2007年, Martins等^[8]应用Janda获得的数据库建立肛提肌主动收缩与被动拉伸时的三维有限元模型。国内: 2008年, 赵惠军等^[9]基于MRI的盆底组织结构三维重建, 其目的是获得女性盆底组织(包

■应用要点

兔肛门直肠三维有限元模型的建立,将肛门直肠疾病的研究带入一个新的领域,加深人们对肛门直肠疾病在发生发展机制、诊断与治疗方面的认识。

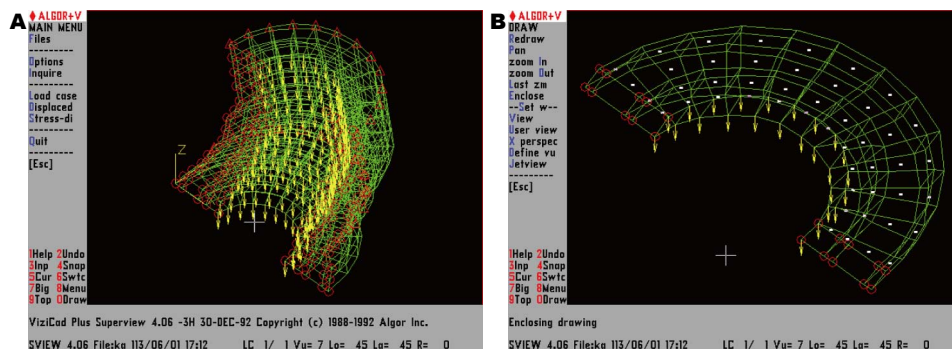


图2 建模中的兔肛门直肠网格图。A: 兔肛门直肠剖面网格图; B: 兔肛门直肠水平面网格图。

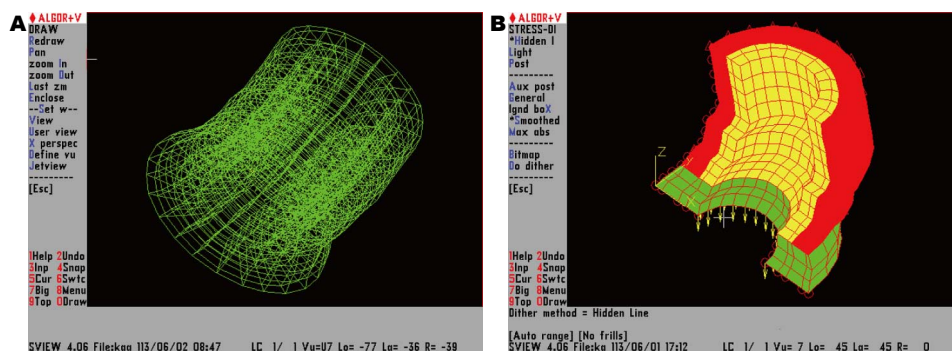


图3 兔肛门直肠有限元模型。A: 兔肛门直肠三维整体网格图; B: 兔肛门直肠材料性质图。

表1 兔肛门直肠各层的力学参数

组织名称	杨氏弹性模量(MPa)	泊松比
肛门	4.00	0.30
直肠黏膜层与黏膜下层	1.50	0.45
直肠肌层与浆膜层	2.30	0.37

括肛提肌及闭孔内肌)的三维模型。2011年宋红芳等^[10]基于磁共振影像学资料,采用有限元软件重构肛提肌的几何结构,采用有限元分析方法仿真计算肛提肌的应力分布。目前未检索到阐述兔肛门直肠有限元建模的文献。

有限元的特点是通过虚拟建模直观反映宏观结构的改变。他的生物力学仿真结果已被证明是准确和可信的^[11-13]。其物理实质是用有限个单元体的组合代替连续域,化无限自由度的问题为有限自由度的问题。主要优点有: (1)能够高度模拟物体结构与材料的特性,进行精确的计算分析; (2)分析研究的重复性好; (3)能够通过模拟分析的方法研究实验方法所不能研究的情况,对感兴趣的组织进行选择,得到客观实体实验法所难以得到的研究结果。

丹麦的Storkholm等^[14]和Gregersen等^[15]在1998年对荷兰猪的生物力学性能进行了拉伸实

验研究,得到荷兰猪小肠的应力和应变符合指数关系。研究证明兔肛门直肠是粘弹性体,但在一定范围内存在线弹性应力-应变关系(如图1A-C)。因此可借用弹性理论的方法处理非线性材料,称为“拟弹性”。本研究将肛门直肠设为拟弹性体,采用研究弹性体的方法来研究,测算杨氏弹性模量与泊松比等力学参数建立兔肛门直肠有限元模型。

杨氏弹性模量是表征在弹性限度内物质材料抗拉或抗压的物理量。根据胡克定律,在物体的弹性限度内,应力与应变成正比,比值被称为材料的杨氏模量,他是表征材料性质的一个物理量,仅取决于材料本身的物理性质。杨氏模量的大小标志材料的刚性,杨氏模量越大,越不容易发生形变。泊松比是材料在单向受拉或受压时,横向正应变与轴向正应变的绝对值的比值,同样能反映物体的刚度。由表1可知,正常的直肠黏膜层与黏膜下层的杨氏弹性模量最小、泊松比最大,说明其最软、最易发生形变,符合临床征象。

兔肛门直肠有限元模型将运用于不同浓度的消痔灵注射治疗兔直肠黏膜内脱垂的疗效评价研究,能形象观察注射前后直肠黏膜内脱垂情况的差异。叶玲等^[16]认为消痔灵注入直肠黏膜

下层, 使直肠黏膜局部组织产生无菌性炎症, 通过组织纤维化使直肠黏膜与肌层粘连形成瘢痕. 正常的黏膜、脱垂的黏膜、消痔灵注射后的黏膜, 三种不同状态的直肠黏膜将测得不同的杨氏弹性模量和泊松比等力学参数. 消痔灵注射后硬化的黏膜, 其杨氏弹性模量将最大, 泊松比最小. 运用测得的力学指标代入兔肛门直肠有限元模型中, 将计算得具体的直肠黏膜脱垂量, 从而直观论证不同浓度的消痔灵注射治疗直肠黏膜内脱垂的疗效.

基于兔肛门直肠有限元模型的建立, 我们获得客观掌握肛门直肠疾病的有效方法, 有助于对此类疾病的深入研究.

4 参考文献

- 1 孙培栋, 陈春, 吴长福, 赵卫东, 张明, 欧阳钧. 有限元分析中软组织力学参数的设定及验证. 医用生物力学 2012; 27: 27-31
- 2 蔚一博, 朱强, 曹志中. Micro-CT技术结合逆向工程软件建立上颌第一前磨牙的三维有限元模型. 第二军医大学学报 2011; 32: 745-748
- 3 瞿东滨, 钟世镇. 骨科生物力学的发展及前沿领域. 中华外科杂志 2010; 48: 311-313
- 4 陈伟, 严志汉, 吴立军. 女性盆底肛提肌的有限元分析. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 8125-8128
- 5 陈灼彬, 万磊. 医学有限元的建模方法. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 6265-6267
- 6 王荣洁, 曾融生, 朱凯. 应用有限元法预测正颌术后三维软组织形变的初步探讨. 中国口腔颌面外科杂志 2012; 10: 90-95
- 7 Janda S, van der Helm FC, de Blok SB. Measuring morphological parameters of the pelvic floor for finite element modelling purposes. *J Biomech* 2003; 36: 749-757 [PMID: 12742442]
- 8 Martins JA, Pato MP, Pires EB, Jorge RM, Parente M, Mascarenhas T. Finite element studies of the deformation of the pelvic floor. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1101: 316-334 [PMID: 17363435 DOI: 10.1196/annals.1389.019]
- 9 赵惠军, 王波, 马洋. 基于MRI的盆底组织结构三维重建. 第四军医大学学报 2008; 29: 1317-1318
- 10 宋红芳, 王雪影, 黄跃, 倪成香, 雷玲玲, 马乐. 女性盆底组织病理状态下的三维有限元分析. 中华妇幼临床医学杂志 2011; 7: 426-429
- 11 Erdemir A, Guess TM, Halloran J, Tadepalli SC, Morrison TM. Considerations for reporting finite element analysis studies in biomechanics. *J Biomech* 2012; 45: 625-633 [PMID: 22236526 DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.11.038]
- 12 Mousavi SR, Khalaji I, Sadeghi Naini A, Raahemifar K, Samani A. Statistical finite element method for real-time tissue mechanics analysis. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2012; 15: 595-608 [PMID: 21476154 DOI: 10.1080/10255842.2010.550889]
- 13 曹兰菊, 李振新, 高凤梅. 基于有限元的生物力学仿真研究. 河南师范大学学报 2009; 4: 139-141
- 14 Storkholm JH, Villadsen GE, Jensen SL, Gregersen H. Passive elastic wall properties in isolated guinea pig small intestine. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 976-982 [PMID: 7729287]
- 15 Gregersen H, Emery JL, McCulloch AD. History-dependent mechanical behavior of guinea-pig small intestine. *Ann Biomed Eng* 1998; 26: 850-858 [PMID: 9779958]
- 16 叶玲, 高献明. 消痔灵注射治疗直肠内脱垂型便秘148例临床观察. 中国现代药物应用 2009; 3: 109-110

■同行评价

本文运用SUPER-SAP有限元软件, 建立兔肛门直肠三维有限元模型, 将为肛门直肠疾病的诊断和疗效评估提供理论指导, 具有一定的创新性.

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



胃息肉的临床病理特征分析460例

冯 智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义

■背景资料

本文通过对新疆医科大学第一附属医院3年间诊断为胃息肉患者胃镜下表现及病理特点分析, 为胃息肉临床诊断及治疗提供客观依据。

冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830000

作者贡献分布: 冯智与古丽巴哈尔·司马义对此文所作贡献均等; 此文章由冯智与古丽巴哈尔·司马义设计; 数据分析由冯智与古丽巴哈尔·司马义完成; 本论文写作由冯智、米娜娃儿·阿布都及古丽巴哈尔·司马义完成。

通讯作者: 古丽巴哈尔·司马义, 副教授, 830000, 新疆乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院. xjianggulibahaer@163.com

收稿日期: 2013-06-12 修回日期: 2013-07-24

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases

Zhi Feng, Minawaer·Abudu, Gulibahaer·Simayi

Zhi Feng, Minawaer·Abudu, Gulibahaer·Simayi, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Gulibahaer·Simayi, Associate Professor, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjianggulibahaer@163.com
Received: 2013-06-12 Revised: 2013-07-24
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To summarize the clinical and pathological features of gastric polyps to provide a basis for the diagnosis and treatment of this disease.

METHODS: Clinical and pathological data for 460 patients with gastric polyps, who were treated at our hospital from January 2011 to January 2013 and had gastroscopy and pathology data, were retrospectively analyzed.

RESULTS: There were 179 (38.9%) males and 281 (61.1%) females. Their age ranged from 22 to 85 years, and 71.7% of them ranged from 40 to 70 years. Of all patients, 263 (57.2%) had single polyp and 197 (42.8%) had multiple ones. Gastric polyps were most commonly seen in the antrum and gastric body (77.2%, 355/460). The diameter of most of the polyps (90.4%) was less than or equal to 0.5 cm. Hyperplastic polyps accounted

for 42.8% of all cases, followed by inflammatory polyps (42.6%). Yamada types I and II polyps accounted for 67.7% of all cases.

CONCLUSION: Most of gastric polyps are small and single, and are more common in women and elderly people. Commonly affected sites are the antrum and gastric body, and hyperplastic and inflammatory polyps account for the majority of cases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroscopy; Gastric polyps; Pathological

Feng Z, Minawaer·Abudu, Gulibahaer·Simayi. Clinical and pathological features of gastric polyps: An analysis of 460 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2590-2593
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2590.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2590>

摘要

目的: 通过对我院胃息肉患者胃镜下表现及病理特点分析, 为胃息肉的临床诊断及治疗提供客观依据。

方法: 对本院2010-01/2013-01消化内镜室检出的460例胃息肉患者的胃镜结果、病理资料进行分析。

结果: 在检出的460例胃息肉病例中, 男性179例(38.9%), 女性281例(61.1%), 年龄在22-85岁之间, 高发年龄段为40-70岁(71.7%, 330/460), 单发息肉263例(57.2%), 多发息肉197例(42.8%); 息肉主要位于胃窦和胃体(77.2%, 355/460), 直径多≤0.5 cm, 共为416例(90.4%); 病理结果显示增生性息肉多见共197例(42.8%), 其次是炎性息肉196例(42.6%)息肉的形态学分型山田分型I、II型共509枚(67.7%)占大多数。

结论: (1)胃息肉内镜下直径较小, 多为单发, 女性多见, 好发人群为中老年人; (2)息肉主要位于胃窦和胃体, 增生性息肉和炎性息肉占大部分, 形态学分型以I、II型多见; (3)胃镜检

■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

查时除明确诊断息肉外, 还应对息肉标本进行病理检查, 以明确息肉类型, 并指导内镜治疗术式的选择。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃镜检查; 胃息肉; 病理类型

核心提示: (1)胃息肉内镜下直径较小, 多为单发, 女性多见, 好发人群为中老年人; (2)息肉主要位于胃窦和胃体, 增生性息肉和炎性息肉占大部分, 形态学分型以 I、II 型多见; (3)胃镜检查时除明确诊断息肉外, 还应对息肉标本进行病理检查, 以明确息肉类型, 并指导内镜治疗术式的选择。

冯智, 米娜娃儿·阿布都, 古丽巴哈尔·司马义. 胃息肉的临床病理特征分析460例. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2590-2593
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2590.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2590>

0 引言

息肉是指从黏膜表面突出的异常生长的组织, 生长在胃内的息肉称之为胃息肉, 是临床常见疾病, 临床表现缺乏特异性, 早期诊断不易, 临床上绝大部分胃息肉是在上消化道内镜检查中偶然发现的。胃息肉有一定的恶变倾向^[1], 本文对新疆医科大学第一附属医院2010-01/2013-01消化内镜室检出门诊、住院的胃息肉460例患者的胃镜、病理资料进行分析, 现总结报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-01消化内镜室检出门诊、住院的胃息肉患者460例, 其中男性179例(38.9%), 女性281例(61.1%), 男女比例为1:1.57, 年龄在22-85岁, 平均56.2岁±13.1岁, 高发年龄段为40-70岁(71.7%, 330/460)。胃息肉的年龄分布如表1所示。

1.2 方法

1.2.1 内镜观察: 由内镜医师对受检者的食管、胃底、胃体、胃窦和十二指肠进行全方位观察, 记录检出的胃息肉的数量、形态、大小和部位, 根据山田分类法进行形态分类^[2]。I型: 息肉隆起的起始部平缓, 与周围黏膜无明显境界; II型: 息肉隆起部与周围黏膜有明显境界, 但息肉底部不变细; III型: 息肉底部明显变细, 但不形成蒂; IV型: 息肉有明显的蒂。

1.2.2 病理组织学检查: 将通过钳夹或息肉切除所取得的组织标本固定于40 g/L甲醛溶液, 常规

蜡块包埋, 3 μm切片。由新疆医科大学第一附属医院病理科医生阅片并参考《诊断病理学》^[3]对息肉进行组织学评价与分类。

统计学处理 数据采用SPSS17.0软件分析。多个样本率的比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 内镜检查结果 本组资料中共752枚息肉, 单发息肉263例(57.2%), 多发息肉197例(42.8%), 其中2枚息肉144例(73.1%), 3枚息肉30例(15.2%), 4枚息肉14例(7.1%), 5枚息肉以上9例(4.6%)。息肉主要位于胃窦和胃体(77.2%, 355/460), 其次是胃底(22.8%, 105/460), 贲门(2.8%, 13/460), 胃角(1.7%, 8/460), 胃息肉的部位分布如表2所示(如果患者同时具有两种或两种以上不同位置的息肉, 则重复进入统计)。直径 ≤ 0.5 cm共416例(90.4%), 0.5-2.0 cm共17例(3.7%), ≥ 2.0 cm共27例(5.9%); 息肉的形态学分型按山田分型 I、II 型共509枚(67.7%), III型182枚(24.2%), IV型61枚(8.1%)。

2.2 病理结果 本组资料中增生性息肉占大多数197例(42.8%), 其次是炎性息肉196例(42.6%), 胃底腺息肉32例(7%), 胃癌22例(4.8%), 腺瘤性息肉12例(2.6%), 错构瘤1例(0.2%)。

2.3 统计学分析 本组460例患者中, 女性61.1%, 高于男性38.9%($P<0.05$), 差异有统计学意义; 年龄段为40-70岁人群占总例数的71.7%, 高于其他年龄段人群($P<0.05$), 差异有统计学意义; 直径 ≤ 0.5 cm数目占90.4%, 高于其他直径分布数目($P<0.05$), 差异有统计学意义; 息肉的分布多位于胃窦和胃体77.2%, 高于其他息肉分布部位($P<0.05$), 差异有统计学意义; 组织学分型山田分型 I、II 型67.7%, 高于其他组织学分型($P<0.05$), 差异有统计学意义; 病理类型增生性息肉和炎性息肉85.4%, 高于其他病理类型($P<0.05$), 差异有统计学意义。

3 讨论

胃息肉是临床常见的黏膜隆起性病变, 其检出率呈逐年增高趋势, 胃息肉目前病因不明确, 有人观察到可能是由于胃黏膜损伤或糜烂后的过度再生结果^[4]。很多研究也认为幽门螺杆菌感染与炎性息肉相关^[5-8]。胃息肉可发生于胃黏膜的任何部位, 本文发现息肉在胃内的分布以胃窦和胃体多见, 而文献报道不一, 王晶桐等^[9]发现胃息

■研发前沿

胃息肉的发生率随年龄增加而上升, 绝大多数息肉是良性病变, 不会危及生命但也有一部分息肉有癌变的倾向, 故需要积极的治疗。由于胃息肉一般没有临床症状, 即使有, 症状也没有特异性, 因此胃息肉的诊断主要依赖电子胃镜检查, 通过病理诊断来确诊胃息肉的良恶性, 从而辅助治疗, 治疗上多采用内镜或手术的方法予以切除。

■创新盘点

新疆维吾尔自治区是一个多民族聚居的地区, 本文对新疆医科大学第一附属医院近3年来胃息肉患者的临床病理进行分析, 相较于其他类似文章亮点在于对胃息肉患者民族差异的可能性分析。

■应用要点

本文通过对新疆医科大学第一附属医院近3年来胃息肉患者的临床病理进行分析,表明胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。

表 1 胃息肉的年龄分布 (n, %)

年龄(岁)	n	(%)
21-30	9	2.0
31-40	48	10.4
41-50	114	24.8
51-60	107	23.3
61-70	109	23.7
71-80	66	14.3
>80	7	1.5
合计	460	100.0

表 2 胃息肉的部位分布 (n, %)

部位	n	(%)
胃体	163	35.4
胃窦	164	35.7
胃底	95	20.7
贲门	8	1.7
胃角	8	1.7
多部位	22	4.8
合计	460	100.0

肉在胃内分布无明显好发部位, Abraham等^[10]发现胃窦多见,可能与新疆地区的饮食、生活习惯相关,亦可能与新疆为维吾尔族、哈萨克族等少数民族聚居区而本组中收集的资料来自多民族人群有关;本文中息肉的病理类型以增生性息肉和炎性息肉为主,这与国内大多数资料报道一致^[11],但国外学者Genta等^[12]发现胃底腺息肉是常见类型。

本组研究资料显示:胃息肉患者以女性281例(61.1%),高发年龄段为40-70岁(71.7%),提示女性、中老年人作为息肉高发人群;胃息肉好发于胃窦和胃体(77.2%, 355/460);胃息肉以单发为主(57.2%);绝大多数息肉直径<0.5 cm(90.4%);根据山田分类法进行形态分类,大多数息肉为山田分型I、II型共509枚(67.7%),内镜下肉眼可见外观多光滑、无充血糜烂,颜色与周围黏膜相同,广基息肉呈类圆形或半球样隆起,少部分息肉呈分叶状、条状;依据组织病理学特征,胃息肉可分为增生性、炎性、胃底腺、错构瘤性和腺瘤性,本组资料中胃息肉的最常见组织学类型为增生性息肉197例(42.8%),其次是炎性息肉196例(42.6%),此外,本组有22例病理诊断为胃癌,22例患者中,病理诊断均为腺癌,包括19例中低分化腺癌,1例高分化腺癌,1例胃黏液腺癌,1例黏膜内腺癌,内镜下肉眼多见为溃疡性肿物,切面灰白、质脆,此外,本组中胃底腺息肉32例(7%),腺瘤性息肉12例(2.6%),错构瘤1例(0.2%)。

本组中病理结果诊断为胃癌22例,均提示在常规胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行常规病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。针对息肉是否癌变,一般认为,炎性息肉恶变率较低,但许多研究也发现炎性增生性息肉有癌变倾向^[13,14],有研

究认为单个发生的胃底腺息肉及质子泵抑制剂相关胃底腺息肉是低度恶性的^[15]。胃底腺息肉发育不良往往与家族性腺瘤性息肉病有关^[16]。Han等^[17]发现直径>1 cm的胃增生性息肉发生致瘤性变化的可能性大于小于1 cm的息肉,建议>1 cm的息肉要正确的诊断和处理。由于内镜治疗方法简便、损伤小,因而内镜下胃息肉切除术得到了广泛的应用。内镜下息肉治疗是安全可靠的^[18-20],息肉尽早切除可有效防止其癌变,其治疗方法主要包括内镜下息肉电切术、内镜钳除、内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜黏膜下剥离(endoscopic submucosal dissection, ESD)甚至胃部分或全部切除术,应根据息肉的部位、大小、形态,有蒂或无蒂等,选用不同的治疗方法。一般来说,对于<0.5 cm的息肉,直接用活检钳钳取切除,对于较大的有蒂和亚蒂息肉,直径2 cm的可直接用接高频电的圈套器套入息肉根部,一次性进行切除。>2 cm的宽基底息肉可分次摘除或用尼龙圈套扎。扁平无蒂息肉可以采用EMR方法切除;ESD技术,可以完整切除5-10 cm的扁平息肉。

总之,胃息肉内镜下直径较小,多为单发,女性多见,好发人群为中老年人;息肉主要位于胃窦和胃体,增生性息肉和炎性息肉占大部分,形态学分型以I、II型多见;胃镜检查时除明确诊断息肉外,还应对息肉标本进行病理检查,以明确息肉类型,并指导内镜治疗术式的选择。

4 参考文献

- 1 Zhao Y, Zhou T, Li A, Yao H, He F, Wang L, Si J. A potential role of collagens expression in distinguishing between premalignant and malignant lesions in stomach. *Anat Rec (Hoboken)* 2009; 292: 692-700 [PMID: 19306436 DOI: 10.1002/ar.20874]
- 2 山田连哉,福富久之. 胃の隆起性病変. 胃と腸 1966; 1: 145
- 3 刘彤华. 诊断病理学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社,

- 2006; 52
- 4 Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640 [PMID: 18384215]
 - 5 王化虹, 胡伏莲, 陈宝雯, 刘新光, 谢鹏雁, 张希全, 白歌. 胃息肉与幽门螺旋杆菌(附111例胃息肉临床分析). *中国内镜杂志* 1997; 3: 11-13, 76-77
 - 6 熊枝繁, 曹仕琼, 谢红英, 陆峰. 126例老年人胃息肉临床、内镜及病理分析. *临床荟萃* 2002; 17: 1436-1438
 - 7 Stolte M, Sticht T, Eidt S, Ebert D, Finkenzeller G. Frequency, location, and age and sex distribution of various types of gastric polyp. *Endoscopy* 1994; 26: 659-665 [PMID: 7859674]
 - 8 Rattan J, Arber N, Tiomny E, Moshkowitz M, Chapsky Y, Baratz M, Rozen P, Gilat T. Gastric polypoid lesions--an eight-year study. *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 107-109 [PMID: 8509038]
 - 9 王晶桐, 马丽萍, 黄勇, 刘玉兰. 胃息肉的临床特征总结. *胃肠病学和肝病杂志* 2005; 14: 181-183
 - 10 Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Hyperplastic polyps of the stomach: associations with histologic patterns of gastritis and gastric atrophy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 500-507 [PMID: 11257625]
 - 11 仇达, 高善玲, 朱丽, 崔琳. Runx3在不同类型胃息肉和胃癌中的蛋白表达及幽门螺旋杆菌感染的相关性. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1371-1374
 - 12 Genta RM, Schuler CM, Robiou CI, Lash RH. No association between gastric fundic gland polyps and gastrointestinal neoplasia in a study of over 100,000 patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 849-854 [PMID: 19465154 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.05.015.]
 - 13 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234 [PMID: 11211611]
 - 14 Yao T, Kajiwarra M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022 [PMID: 12395375]
 - 15 Declich P, Ambrosiani L, Bellone S, Tavani E, Ferrara A, Galati F, Caruso S, Baldacci MP. Fundic gland polyps: a not so innocuous entity worth a careful evaluation. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2641 [PMID: 9860464]
 - 16 Bertoni G, Sassatelli R, Nigrisoli E, Pennazio M, Tansini P, Arrigoni A, Rossini FP, Ponz de Leon M, Bedogni G. Dysplastic changes in gastric fundic gland polyps of patients with familial adenomatous polyposis. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 192-197 [PMID: 10379478]
 - 17 Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
 - 18 贺德志, 彭俏, 李建生. 内镜治疗胃息肉653例临床分析. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 345-246
 - 19 赵振涛, 岳园. 内镜下电凝电切术治疗消化道息肉52例分析. *中国误诊学杂志* 2009; 9: 171
 - 20 徐世琴, 王小明, 黄林, 邓树忠. 内镜下治疗胃息肉的疗效观察. *四川医学* 2012; 33: 1411-1413

■同行评价

本文总结460例胃息肉临床资料, 分析了其病理特征, 对临床诊治具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林

■背景资料

乙型肝炎病毒感染引起的肝衰竭目前已成为乙型肝炎病人的主要死因之一,除了内科综合治疗措施,人工肝治疗以及肝移植等治疗手段外,新的治疗手段和药物一直是临床关注热点。

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021
马莎莎, 硕士, 主要从事肝脏病的发病机制及诊疗方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由吴继周与马莎莎共同设计; 研究过程、数据提取及数据分析由马莎莎、宁秋悦、钟大妮及吴健林操作完成; 论文写作由马莎莎、吴继周及宁秋悦共同完成; 由吴继周审核。

通讯作者: 吴继周, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。
wjz925@163.com

收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-07-10

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A Meta-analysis

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Qiu-Yue Ning, Da-Ni Zhong, Jian-Lin Wu

Sha-Sha Ma, Ji-Zhou Wu, Qiu-Yue Ning, Da-Ni Zhong, Jian-Lin Wu, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China

Correspondence to: Ji-Zhou Wu, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. wjz925@163.com

Received: 2013-06-06 Revised: 2013-07-10

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure.

METHODS: This meta-analysis collected the randomized control trails that used entecavir to treat liver failure induced by hepatitis B virus from January 2005 to April 2013. All these clinical trials were carried out by comparing entecavir treatment with routine medical treatment for liver failure. Odds ratio (OR) was used to evaluate the effect of entecavir on survival and reduction in HBV-DNA levels in patients with HBV-related liver failure.

RESULTS: A total of 18 studies were included.

OR for the survival rate was 2.17 (95% CI: 1.63-2.89) and OR for reduction in HBV-DNA levels was 20.32 (95%CI: 8.09-51.04).

CONCLUSION: Routine medical treatment in combination with entecavir is more effective than routine medical treatment alone in improving survival and inhibiting HBV replication in patients with HBV-associated liver failure.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Entecavir; HBV-related liver failure; Randomized control trial; Meta-analysis

Ma SS, Wu JZ, Ning QY, Zhong DN, Wu JL. Effect of entecavir on survival of patients with HBV-related liver failure: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2594-2600 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2594>

摘要

目的: 系统评价恩替卡韦治疗乙型肝炎病毒相关性肝衰竭的疗效。

方法: 检索2005-01/2013-04有关在常规内科治疗基础上使用恩替卡韦后对患者生存率及DNA转阴率影响的随机对照试验,应用Meta分析的方法以比值比(odds ratio, OR)为效应量进行合并分析。

结果: 共纳入18篇RCT, 生存率的合并效应量OR值及95%CI: 2.17(95%CI: 1.63-2.89), HBV-DNA转阴率的OR值的合并效应量及95%CI: 20.32(95%CI: 8.09-51.04)。

结论: 与内科常规治疗比较, 加用恩替卡韦可显著抑制HBV的复制, 明显提高生存率。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 恩替卡韦; HBV相关性肝衰竭; 随机对照试验; Meta分析

■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

核心提示: 恩替卡韦可以高效迅速抑制乙型肝炎病毒复制, 血清及肝组织中的病毒负荷降低, 肝细胞表面靶抗原的表达减轻, 使再生肝细胞免受病毒感染, 减轻肝内炎症活动和坏死程度, 减少死亡率。

马莎莎, 吴继周, 宁秋悦, 钟大妮, 吴健林. 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭随机对照试验的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2594-2600 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2594.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2594>

0 引言

肝衰竭是以肝性脑病、肝肾综合征、凝血功能障碍和黄疸等为主要临床表现的一组临床症候群^[1], 病死率高. 其病理生理改变在于肝炎病毒、药物、乙醇等多种因素导致严重的肝脏功能损害, 合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿. 我国是乙型肝炎病毒感染高发国家之一, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的肝衰竭目前已成为乙型肝炎患者的主要死因之一. 目前, 肝移植仍被认为是治疗肝衰竭的首选治疗方案, 但是肝源的缺乏以及高昂的治疗费用使得其在临床上的应用受到了极大地限制. 近几年来, 人工肝技术成为肝衰竭患者的重要支持疗法, 但同样受到费用及血源的限制. 恩替卡韦(entecavir, ETV)作为一种强有效而低耐药率的抗病毒药物已被广泛应用于乙型肝炎相关性肝衰竭的治疗中, 虽然相关的临床研究报道较多, 但结论不尽一致, 而且在目前相关的肝衰竭治疗指南中仅作为专家的推荐意见(证据级别仅为III级), 可见, 从循证医学的角度对ETV治疗HBV相关性肝衰竭的临床试验进行系统评价是有必要的. 本研究致力于对ETV是否能提高乙型肝炎相关性肝衰竭患者的生存率及降低HBV-DNA水平的效果进行Meta分析, 以期发现较新的科学、客观的循证医学证据, 用于指导HBV相关性肝衰竭临床治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 以“liver failure”、“hepatic failure”、“entecavir”、“Baraclude”、“severe hepatitis B”为主题词, 检索语种为英语, 对在2005-01/2013-04公开发表在Medline, Pubmed, Embase, the Cochrane Center Register of Controlled Trials等数据库的文献进行检索; 对2005-01/2013-04公开发表在重庆维普数据库

(VIP)、中文科技数据库、CNKI全文数据库、万方数据库等的文献, 以“恩替卡韦”、“博路定”、“肝衰竭”、“乙型重型肝炎”、“慢加急性肝衰竭”等为主题词, 以汉语为检索语种进行检索, 同时以文献追述和手工检索的方法为辅助, 纳入相关的参考文献.

1.2 方法

1.2.1 入选标准: (1)研究设计: 随机对照试验(randomized control trial, RCT); (2)研究对象: 符合我国2000年《病毒性肝炎防治方案》或2006年《肝衰竭诊疗指南》诊断标准; 均有急性乙型肝炎、慢性乙型肝炎或乙型肝炎后肝硬化的疾病史; HBV-DNA阳性($>10^3$ copy/mL); (3)纳入研究前发现乙型肝炎表面抗原超过6 mo, 入选前未使用任何抗病毒药物, 或之前使用过, 但已停用至少6 mo以上者; (4)干预措施: 试验组在内科常规综合治疗的基础上加用ETV, 对照组除单纯内科常规综合治疗外不加用任何抗病毒药物, 在年龄、性别、病情等方面的差异无统计学意义; (5)选择最详细、最近发表的重复报道的文献进行分析.

1.2.2 剔除标准: (1)合并其他病毒的感染, 包括甲、丙、丁、戊型肝炎病毒或EB病毒、巨细胞病毒; 或合并其他容易引起肝衰竭的疾病, 如自身免疫性肝炎、药物性肝炎、酒精性肝炎等; (2)合并有严重免疫系统疾病、血液系统疾病、或恶性肿瘤、明显精神病史; (3)存在样本资料交待不清楚、诊断及疗效判定标准不统一等问题; (4)在治疗或随访期间辅助人工肝或糖皮质激素治疗者; (5)在分析时无法转化或应用提供的数据的文献.

1.2.3 质量控制: 2名研究者接受统一培训后对文献进行检索, 并对检索结果防止文献遗漏. 对第一作者、标题、刊物名称、发表时间、患者年龄、性别、治疗方式、治疗时间、结局指标等资料进行提取归纳. 对纳入文献采用Jadad评分标准进行质量评分^[2], 低质量文献 ≤ 2 分, 高质量文献 ≥ 3 分.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的Revman5.0软件包. 比值比(odds ratio, OR)及95%CI作为系统评价的指标. 异质性检验采用 χ^2 检验进行, 根据异质性检验结果评估是否合并效应量及使用哪种模型进行估计; 存在同质性则应用固定效应模型(Mantel-Haenszel), 存在异质性时则用随机效应模型(Dersimonian-Laird). 根据森林图判定结果: OR = 1提示ETV治疗对生

■研究前沿

通过Meta分析评估恩替卡韦是否能提高乙型肝炎相关性肝衰竭患者的生存率及降低HBV-DNA水平的效果.

■相关报道

抗乙型肝炎病毒药物如拉米夫定、恩替卡韦可以改善乙型肝炎病毒感染相关性的肝衰竭患者的生存率。

表 1 纳入文献的特征

文献来源	样本含量		ETV剂量 (mg/d)	疗程	治疗结束时存活例数		Jadad评分
	ETV组	常规组			ETV组	常规组	
郭玉香 ^[3]	37	45	0.5	8 wk	32	30	2
杨海敏等 ^[4]	55	55	0.5	30 d	40	26	3
韩志启等 ^[5]	20	16	0.5	4 wk	20	16	2
赵蕊 ^[6]	40	40	0.5	48 wk	38	27	2
钟旬华等 ^[7]	30	30	0.5	1年	21	13	2
Chen等 ^[8]	55	74	0.5	3 mo	36	55	2
Cui等 ^[9]	33	37	0.5	3 mo	16	15	2
赵红等 ^[10]	63	58	0.5	12 wk	46	39	2
Chen等 ^[11]	42	34	0.5	3 mo	26	12	2
王朝辉 ^[12]	22	20	0.5	12 wk	12	4	2
李芳等 ^[13]	16	14	0.5	6 wk	12	6	2
朱爱红等 ^[14]	23	23	0.5	12 wk	22	21	2
袁锦林等 ^[15]	71	50	0.5	30 d	71	50	2
廖炯 ^[16]	25	25	0.5	12 wk	25	25	2
徐春华 ^[17]	27	25	0.5	6 wk	27	25	2
杨澍等 ^[18]	32	32	0.5	8 wk	32	32	2
林峰等 ^[19]	20	17	0.5	8 wk	20	17	2
郭翔 ^[20]	40	38	0.5	12 wk	22	12	2

ETV组: 在综合治疗基础上加用恩替卡韦。

存率及HBV-DNA降低水平无影响; 当OR<1时提示ETV治疗对生存率及HBV-DNA转阴率无益; 当OR>1时表明ETV治疗有利于提高生存率及降低DNA水平。发表偏倚的评估采用漏斗图, 并对结果进行敏感性分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 入选文献的基本情况 根据入选标准及剔除标准进行筛选, 共检索到120篇与ETV治疗乙型肝炎病毒相关性肝衰竭相关的文献。入选文献均以ETV和常规治疗进行分组, 其中有两篇文献分组中包括拉米夫定治疗组, 疗程均在4 wk以上。最终纳入Meta分析的RCT文献共18篇。其中, 英文文献3篇, 中文文献15篇, 所有的RCT均在中国大陆地区进行, 如表1所示。

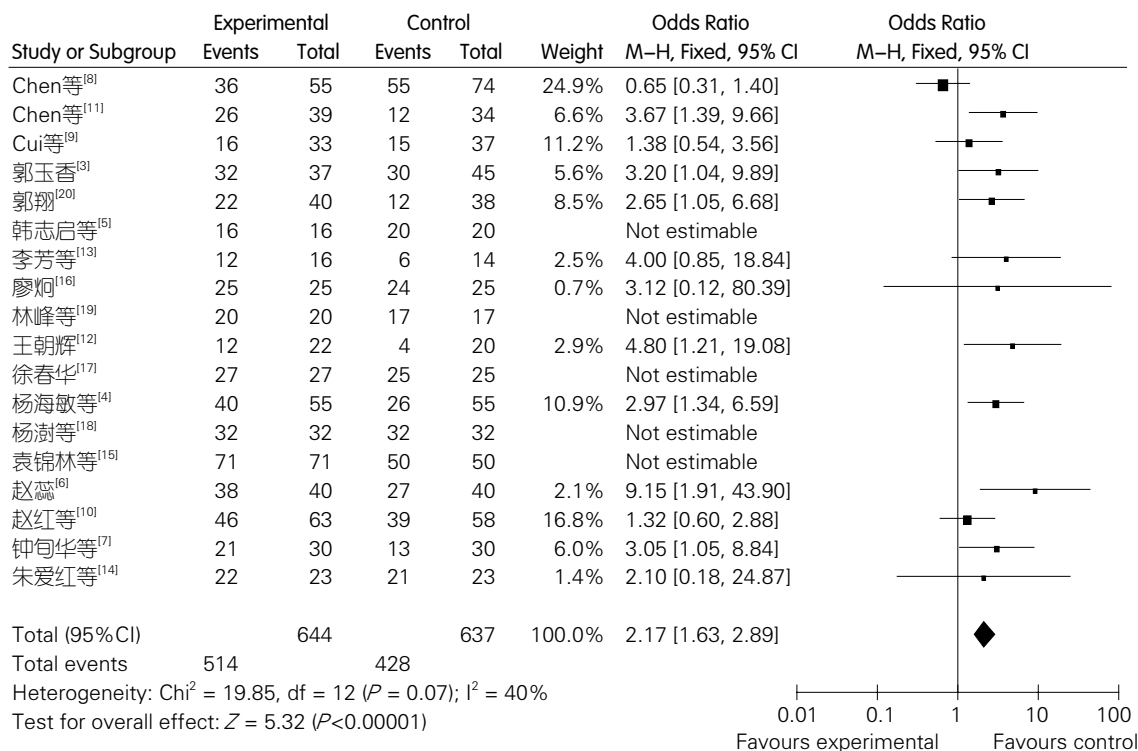
2.2 ETV对HBV相关性肝衰竭患者生存率的影响 共有18篇文献入选, 其中ETV组共纳入644例, 常规治疗组共纳入637例, χ^2 检验提示存在同质性($\chi^2 = 19.85$, $I^2 = 40\%$, $P = 0.07$), 效应量的合并采用固定效应模型进行, OR值及95%CI为2.17(95%CI: 1.63-2.89), 提示ETV治疗组的生存率是常规治疗组生存率的2.17倍, 存在统计学差异($Z = 5.32$, $P<0.00001$, 图1)。

2.3 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗1 mo(4

wk)的生存率的影响 共有9篇文献涉及ETV治疗1 mo(4 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入411例, 常规治疗组共纳入413例, 经异质性检验后提示存在同质性($\chi^2 = 2.75$, $I^2 = 0\%$, $P = 0.06$), 合并效应后OR值及95%CI为2.89(95%CI: 1.81-4.62), 表明ETV治疗组的1 mo生存率相较于常规治疗组升高, 具有统计学意义($Z = 4.46$, $P<0.00001$, 图2)。

2.4 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗2 mo(8 wk)的生存率的影响 共有7篇文献涉及ETV治疗2 mo(8 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入286例, 常规治疗组共纳入300例, 异质性检验结果认为存在同质性($\chi^2 = 5.68$, $I^2 = 47\%$, $P = 0.13$), OR值的合并效应量及95%CI为1.69(95%CI: 1.04-2.73), 表明ETV治疗组的2 mo生存率亦高于常规治疗组, 差异具有统计学意义($Z = 2.13$, $P = 0.03$, 图3)。

2.5 ETV对HBV相关性肝衰竭患者治疗3 mo(12 wk)的生存率的影响 共有9篇文献涉及ETV治疗3 mo(12 wk)后的生存例数, 其中ETV组共纳入340例, 常规治疗组共纳入349例, χ^2 检验表明存在同质性($\chi^2 = 12.20$, $I^2 = 43\%$, $P = 0.09$), OR值及95%CI为1.64(95%CI: 1.15-2.34), 表明ETV治疗组的3 mo生存率亦明显高于常规治疗组的生存率, 存在统计学差异($Z = 2.72$, $P = 0.006$, 图4)。



■ 创新盘点

通过文献检索纳入18篇文献进行Meta分析, 结果表明恩替卡韦的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率。

图1 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭的总体生存率分析。

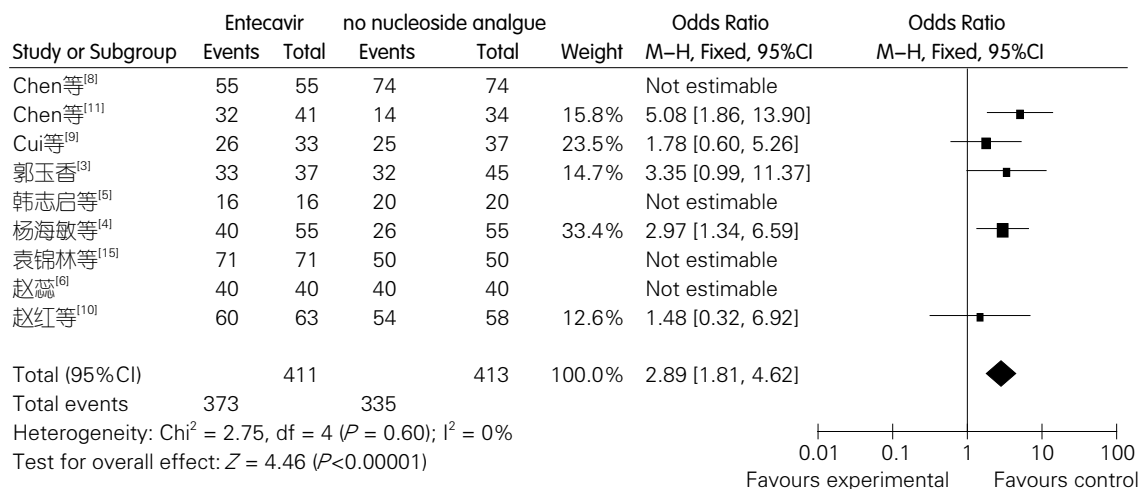


图2 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭1 mol(4 wk)的生存率分析。

2.6 ETV对HBV相关性肝衰竭患者HBV-DNA水平的影响 共10篇文献提供了治疗结束时各组HBV-DNA转阴的例数($HBV-DNA < 10^3$ copy/mL), 其中ETV组共纳入288例, 常规治疗组共纳入240例, 文献的异质性检验结果认为各研究之间存在异质性($\chi^2 = 25.18$, $I^2 = 64\%$, $P = 0.003$), 因此采用随机效应模型, OR值的合并效应量及95%CI为20.32(95%CI: 8.09-51.04), 表明ETV治疗组中患者HBV-DNA转阴率显著高于常规治疗组, 差异具有统计学意义($Z = 6.41$, $P < 0.00001$,

图5)。

2.7 文献发表偏倚及敏感性分析 漏斗图分析纳入的研究分布不对称, 提示可能存在较大偏倚(图6)。分别采用固定效应模型和随机效应模型对研究结果进行敏感性分析进一步考察Meta分析的可靠性, 前后两次结论基本一致。

3 讨论

肝衰竭是一组临床症候群, 以凝血机制障碍和黄疸、肝性脑病、肝肾综合征等为主要临床表

■应用要点

对于指导临床治疗, 增强临床应用恩替卡韦抗病毒信心具有重要的指导意义。

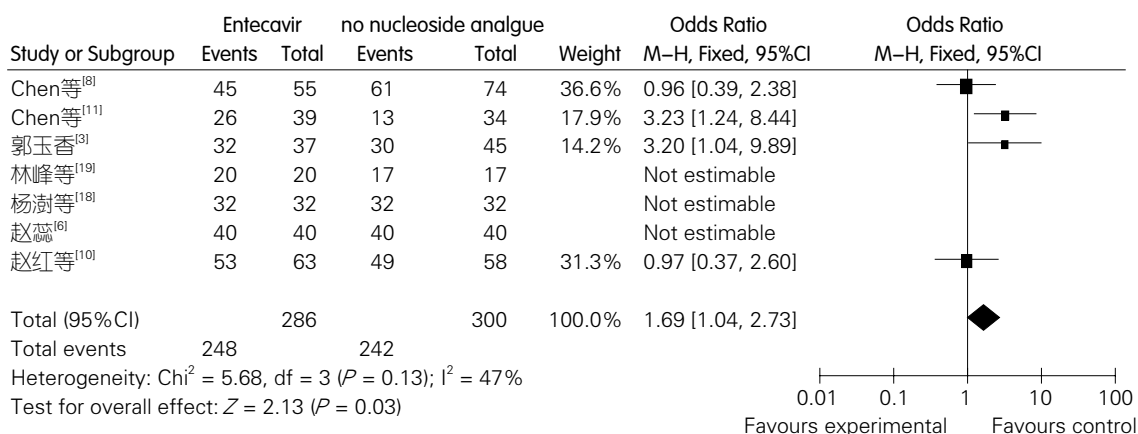


图3 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭2 mo(8 wk)的生存率分析。

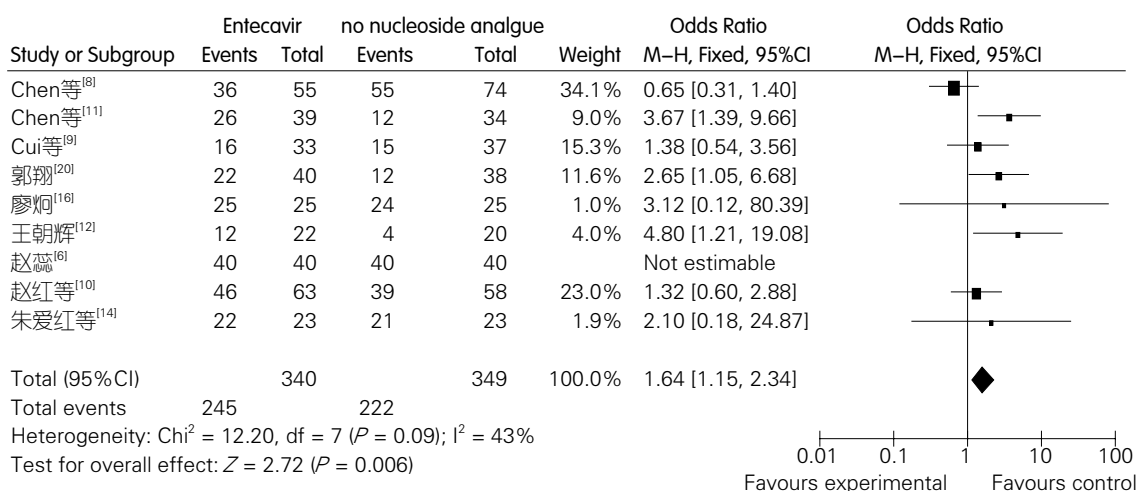


图4 恩替卡韦治疗HBV相关性肝衰竭3 mo(12 wk)的生存率分析。

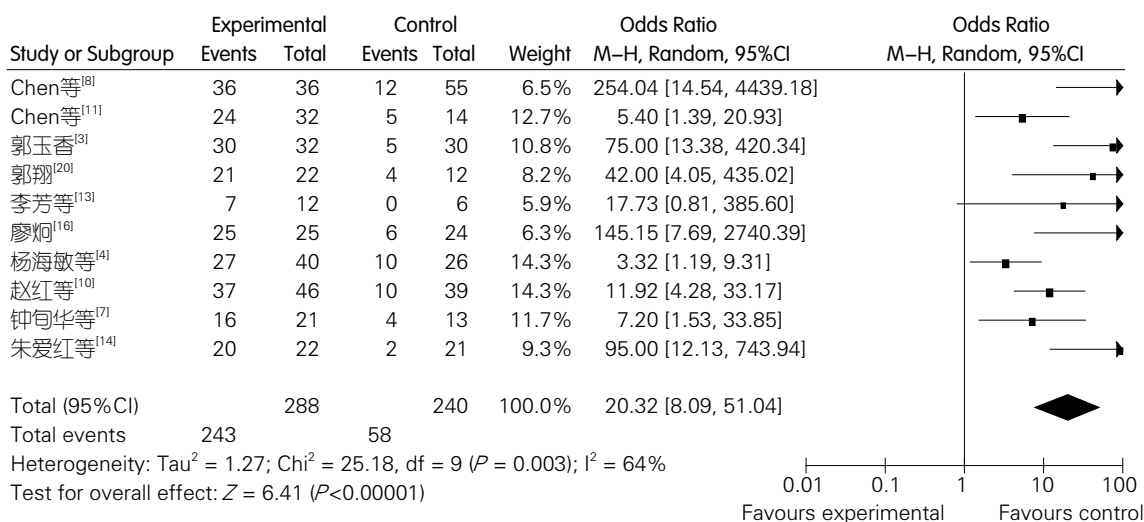


图5 恩替卡韦治疗对HBV相关性肝衰竭患者HBV-DNA水平的影响。

现。其病因主要为各种肝炎病毒感染(A、B、C、D)、自身免疫性肝病、酒精性肝病、药物性肝病、Wilson病等, 可以分为急性、亚急性、慢加急性(亚急性)及慢性肝衰竭四型, 其中以慢

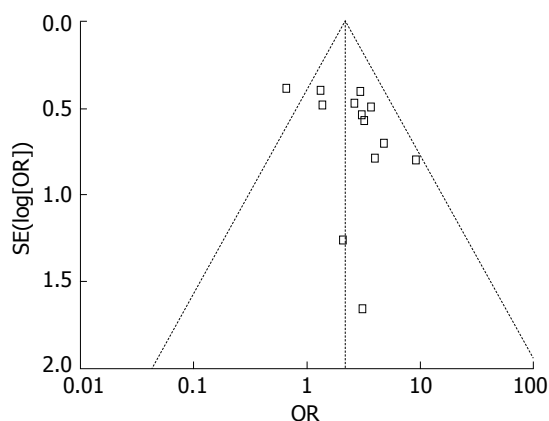


图6 恩替卡韦治疗对患者生存率影响的Meta分析漏斗图。

加急性(亚急性)肝衰竭多见。相较于欧美国家肝衰竭多因药物(乙酰氨基酚类)及酒精所致,乙型肝炎病毒感染是我国肝衰竭主要因素,但HBV相关性肝衰竭的定义目前尚不一致^[21]。发病机制也很复杂,现认为其发生机制以HBV感染引起的肝细胞免疫病理损伤及T淋巴细胞毒性反应为主^[22],HBV的高复制及其蛋白抗原在肝细胞表面的表达,诱发以细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和迟发型变态反应性T细胞(T delayed type hypersensitivity cell, TD)为主要效应细胞的细胞免疫反应,导致大片肝细胞坏死,是其致病的主要途径之一^[23]。HBV的感染是肝功能损害的始动因素,肝衰竭(重型肝炎)是肝细胞在肝炎基础上再次受病毒特异的免疫攻击后机内毒素血症直接或间接损害肝细胞所致^[24,25]。抗乙型肝炎病毒治疗能使HBV的复制迅速得到抑制,血清及肝细胞中的病毒负荷降低,减轻肝细胞表面靶抗原的表达,降低细胞毒性T淋巴细胞对感染乙型肝炎病毒的肝细胞的攻击,避免了反复多次的免疫损伤,使再生肝细胞免受病毒再感染,从而减轻肝内炎症活动和坏死程度,成为乙型肝炎病毒相关性肝衰竭治疗的关键^[26]。

乙型肝炎病毒相关性肝衰竭的临床治疗现以综合内科治疗为主,肝移植虽仍被认为是治疗肝衰竭的首选治疗方案,但是肝源的缺乏以及高昂的治疗费用使得其在临床上的应用受到了极大地限制。近几年来,人工肝技术成为肝衰竭患者的重要支持疗法,但同样受到费用及血源的限制。这些都促使临床专家去寻求一种新的途径来控制肝衰竭的进展。抗乙型肝炎病毒药物可以使机体病毒载量降低,过强的免疫反应得到缓解,使其成为治疗乙型重型肝炎的一

种方法。

ETV是一种有效的、选择性抑制乙型肝炎病毒复制的脱氧鸟嘌呤核苷类似物,可抑制病毒DNA多聚酶的活性,作用于病毒逆转录的3个环节:多聚酶的启动、前基因组逆转录负链的形成、HBV-DNA正链的合成^[27],掺入到HBV-DNA链上,从而终止DNA链的延伸和病毒的复制。体内外试验^[28,29]均已证明ETV的抗病毒能力强、耐药发生率低,并且能够减轻慢性乙型肝炎及代偿期肝硬化患者的肝纤维化程度,改善预后^[30],因此更适合作为重型乙型肝炎或肝硬化患者的优先选择。目前已有众多文献报道了ETV对HBV相关性肝衰竭的治疗,但对于其能否改善生存率,结论不一。因此,本研究选择ETV治疗HBV相关性肝衰竭的随机对照试验进行Meta分析,以期明确ETV对改善乙型肝炎相关性肝衰竭生存率的影响,为肝衰竭的治疗提供依据。

Meta分析的结果表明,在常规内科治疗基础上加用ETV治疗HBV相关性肝衰竭后的患者生存率明显高于常规内科治疗组,差异具有统计学意义($P<0.0001$),其合并效应量OR值及95%CI为2.17(95%CI: 1.63-2.89),表明ETV的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率。同时,本Meta分析具体分析了ETV治疗对1 mo(4 wk)、2 mo(8 wk)及3 mo(12 wk)生存率的影响,发现ETV治疗组的生存率均明显高于常规治疗组,均具有统计学差异,其OR值分别为2.89、1.69及1.64。此外,针对于HBV-DNA转阴率的分析发现,ETV组HBV-DNA转阴率明显高于常规治疗组,OR值的合并效应量及95%CI为20.32(95%CI: 8.09-51.04),表明ETV治疗组患者的HBV-DNA转阴率显著高于常规治疗组,存在统计学差异($Z=6.41, P<0.00001$)。综上可以得出结论,ETV抗病毒治疗能显著提高患者生存率的原因可能在于ETV可以高效迅速抑制HBV复制,血清及肝组织中的病毒负荷降低,肝细胞表面靶抗原的表达减轻,使再生肝细胞免受病毒感染,减轻肝内炎症活动和坏死程度,减少死亡率。因此,ETV应该能够成为除肝移植、人工肝血浆置换术外治疗HBV相关性肝衰竭的主要手段,并应该推荐在疾病的早期尽早使用,降低病毒载量,减轻免疫反应,挽救患者的生命,并为肝移植的进行争取时间。由于Meta分析的客观性和准确性主要依赖于全面而高质量的原始文献的支持,该Meta分析虽将RCT应用在研究中,但由于具体盲法的实施、分配方案隐藏、随机方

■同行评价

本文表明恩替卡韦的治疗可以改善HBV相关性肝衰竭患者的生存率,对指导临床治疗具有重要意义。

法及失访情况等描述的不全面使得Jadad评分普遍不高,此外,本次Meta分析可能存在发表偏倚,其可能的原因为样本量小的研究方法学质量低下以及阴性结果不易发表导致数据偏差.因此,上述结论尚需纳入更多高质量的前瞻性、大样本、多中心的随机对照试验进一步验证.

4 参考文献

- 1 李兰娟. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-1056
- 2 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12 [PMID: 8721797]
- 3 郭玉香. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎临床观察. 中国慢性病预防与控制 2008; 16: 289-290
- 4 杨海敏, 王燕, 姜娜. 博路定治疗慢性乙型肝炎55例. 实用医技杂志 2008; 15: 1100-1101
- 5 韩志启, 秦波, 张海. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎疗效观察. 临床肝胆病杂志 2009; 25: 188-189
- 6 赵蕊. 慢性重型乙型肝炎患者恩替卡韦治疗效果分析. 中国公共卫生 2009; 25: 758-759
- 7 钟旬华, 袁静, 杨艳, 李炜, 陈晓英. 恩替卡韦治疗乙型肝炎肝衰竭患者临床研究. 临床肝胆病杂志 2009; 25: 331-333
- 8 Chen J, Han JH, Liu C, Yu RH, Li FZ, Li QF, Gong GZ. Short-term entecavir therapy of chronic severe hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 261-266 [PMID: 19502165]
- 9 Cui YL, Yan F, Wang YB, Song XQ, Liu L, Lei XZ, Zheng MH, Tang H, Feng P. Nucleoside analogue can improve the long-term prognosis of patients with hepatitis B virus infection-associated acute on chronic liver failure. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2373-2380 [PMID: 20512414 DOI: 10.1007/s10620-010-1257-7]
- 10 赵红, 王桂爽, 谢雯, 闫杰, 王艳斌, 程丹颖, 欧蔚妮, 冯亮, 成军. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝衰竭的疗效观察. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2011; 5: 188-194
- 11 Chen T, He Y, Liu X, Yan Z, Wang K, Liu H, Zhang S, Zhao Y. Nucleoside analogues improve the short-term and long-term prognosis of patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure. *Clin Exp Med* 2012; 12: 159-164 [PMID: 22002708 DOI: 10.1007/s10238-011-0160-7]
- 12 王朝辉. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎近期疗效观察. 中国医药指南 2011; 9: 283-285
- 13 李芳, 李幼林. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎临床观察. 宁夏医科大学学报 2009; 31: 796-797.
- 14 朱爱红, 丁苇. 恩替卡韦治疗慢加急性肝衰竭的临床观察. 齐齐哈尔医学院学报 2009; 30: 1690-1691
- 15 袁锦林, 宋晓敏, 史建国, 张雪明. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎71例疗效观察. 苏州大学学报(自然科学版) 2009; 29: 1205-1206
- 16 廖炯. 恩替卡韦治疗慢性重型乙型肝炎早期患者的疗效分析. 中国医药导报 2012; 9: 101-102
- 17 徐春华. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的临床研究. 现代预防医学 2010; 37: 1770-1771
- 18 杨谢, 王洪, 徐强胜, 王雪刚, 曹丽红, 洪婉媚. 恩替卡韦对慢性乙型肝炎抢救作用. 中外医疗 2011; 30: 1-2, 4
- 19 林锋, 吴涛, 符健, 吴彪, 邱平, 许小珍, 蔡笃运, 贾杰. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎临床观察. 中国热带医学 2009; 9: 646-662
- 20 郭翔. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎近期疗效观察. 临床肝胆病杂志 2008; 24: 446-447
- 21 Canbay A, Tacke F, Hadem J, Trautwein C, Gerken G, Manns MP. Acute liver failure: a life-threatening disease. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 714-720 [PMID: 22114640 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0714.Epub]
- 22 段钟平, 陈煜. 重型肝炎及肝衰竭研究的进展与展望. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 10-11
- 23 王宇明, 汤影子. 重型乙型肝炎发病机制研究进展. 传染病信息 2008; 21: 68-71
- 24 Leifeld L, Cheng S, Ramakers J, Dumoulin FL, Trautwein C, Sauerbruch T, Spengler U. Imbalanced intrahepatic expression of interleukin 12, interferon gamma, and interleukin 10 in fulminant hepatitis B. *Hepatology* 2002; 36: 1001-1008 [PMID: 12297850]
- 25 Liu Q. Role of cytokines in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure. *Blood Purif* 2009; 28: 331-341 [PMID: 19729901 DOI: 10.1159/000232940. Epub]
- 26 Villeneuve JP, Condreay LD, Willems B, Pomier-Layrargues G, Fenyves D, Bilodeau M, Leduc R, Peltekian K, Wong F, Margulies M, Heathcote EJ. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 31: 207-210 [PMID: 10613747]
- 27 Seifer M, Hamatake RK, Colonno RJ, Standing DN. In vitro inhibition of hepatitis B virus polymerases by the triphosphates of BMS-200475 and lobucavir. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 3200-3208 [PMID: 9835515]
- 28 邓中平. 恩替卡韦治疗乙型肝炎的疗效及安全性. 中国新药与临床杂志 2005; 24: 326-329
- 29 罗生强, 张玲霞. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的最新进展. 中国新药杂志 2006; 15: 1023-1028
- 30 Schiff E, Simsek H, Lee WM, Chao YC, Sette H, Janssen HL, Han SH, Goodman Z, Yang J, Brett-Smith H, Tamez R. Efficacy and safety of entecavir in patients with chronic hepatitis B and advanced hepatic fibrosis or cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2776-2783 [PMID: 18721244 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02086.x.Epub]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 殷亮, 杨军, 陈明清, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤科 云南省昆明市 650032

洪敏, 董坚, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科 云南省昆明市 650032

珠珠, 在读博士, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160245

作者贡献分布: 珠珠、董坚及陈明清对此文所做贡献均等; 此课题设计由董坚、珠珠及黄鉴设计; 数据采集由珠珠、黄鉴、李文亮、洪敏、殷亮及杨军完成; 数据统计由珠珠与黄鉴完成; 本论文写作由珠珠、董坚及黄鉴完成。

通讯作者: 董坚, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科。

dongjian18@yahoo.com

电话: 0871-65361621 传真: 0871-65361621

收稿日期: 2013-06-17 修回日期: 2013-07-15

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma

Zhu Zhu, Jian Huang, Wen-Liang Li, Min Hong, Liang Yin, Jun Yang, Ming-Qing Chen, Jian Dong

Zhu Zhu, Jian Huang, Wen-Liang Li, Liang Yin, Jun Yang, Ming-Qing Chen, Cancer Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Min Hong, Jian Dong, Department of Internal Medicine-Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160245

Correspondence to: Jian Dong, Professor, Chief Physician, Department of Internal Medicine-Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. dongjian18@yahoo.com

Received: 2013-06-17 Revised: 2013-07-15

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic value of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in colorectal carcinoma.

METHODS: Serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 were determined in 1628 patients with colorectal cancer, 898 patients with colon

polyps, and 750 healthy persons.

RESULTS: Serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 were significantly higher in patients with colorectal cancer than in patients with colon polyps and healthy controls. The sensitivity and specificity of combined detection of the four indicators for the diagnosis of colorectal cancer were significantly higher than those of detection of any single indicator. Patients with stage C and D colorectal cancer had significantly higher serum levels of tumor markers than patients with stage A and B disease ($P < 0.05$). The level of serum tumor markers had no significant association with tumor pathological type ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Combined detection of CEA, CA199, CA125 and CA242 can help improve the accuracy of diagnosis of colorectal cancer. Higher serum levels of CEA, CA199, CA125 and CA242 are associated with more advanced stage of colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal carcinoma; Tumor markers; Combined detection

Zhu Z, Huang J, Li WL, Hong M, Yin L, Yang J, Chen MQ, Dong J. Significance of combined detection of tumor markers CA199, CA242, CEA and CA125 in the diagnosis of colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2601-2605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2601>

摘要

目的: 探讨血清癌胚抗原(CEA)、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的临床应用价值。

方法: 分别检测1628例大肠癌患者、898例大肠息肉患者和750例健康者血清中CEA、CA199、CA125、CA242水平, 并对结果进行分析。

■背景资料

大肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 早期诊断、早期治疗是提高大肠癌患者生存率的关键。在患者外周血中寻找分子标志物成为目前研究的热点, 临床上常将几种肿瘤标志物联合起来进行检测, 来提高大肠癌诊断的敏感性和特异性。

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研究前沿

在我国大肠癌发病率逐年上升,由于其早期一般无明显症状,多数患者确诊时已是中晚期,常已发生转移,因此患者常失去最佳治疗时机。血清肿瘤标志物检测是一种无创而且有效的诊断方法,但是,单项检测在大肠癌诊断方面缺乏足够的敏感性和特异性。

结果: 大肠癌组血清CEA、CA199、CA125、CA242水平显著高于大肠息肉组和健康对照组,4项指标联合筛查灵敏度和特异度高于单用任何一项指标,分别为95.8%和98.2%;C期、D期大肠癌患者各血清肿瘤标志物水平显著高于A期和B期患者,差异有统计学意义($P<0.05$);不同病理类型中,各血清肿瘤标志物水平没有显著差异,无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,可弥补单项检测的不足,提高临床诊断的准确性,CEA、CA199、CA125、CA242阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后可能越差。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 大肠癌; 肿瘤标志物; 联合检测

核心提示: 联合血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,可弥补单项检测的不足,提高临床诊断的准确性,CEA、CA199、CA125、CA242阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后有可能越差。

珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚. 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2601-2605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2601>

0 引言

大肠癌包括结肠癌和直肠癌,是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率位居第3位。早发现、早诊断、早治疗是提高大肠癌患者生存率的关键。血清肿瘤标志物与肿瘤的发生、发展密切相关,通过检测血清、血浆或其他体液中肿瘤标志物的存在或量变可以提示肿瘤的性质并对其进行诊断和分类,有效评估患者的预后或监测患者的治疗反应,对提高临床肿瘤诊疗水平具有重要的意义。在临床诊断中,使用肿瘤标志物的关键是合理应用及正确评价,所以寻找能够用于早期诊断、治疗观察、预后判断且具有高灵敏度和特异度的肿瘤标志物,成为关注的重点。目前临床最常用的大肠癌肿瘤标志物为癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、CA199、CA125、CA724等,但单项检测在大肠癌诊断方面缺乏足够的敏感性和特异性,大多数报道

认为,联合使用肿瘤标志物可以提高诊断灵敏性和特异性^[1,2]。因此,本文联合CEA、CA199、CA125、CA242检测,探讨其在大肠癌诊断中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集昆明医科大学第一附属医院2001-01/2012-12收治的有完整记录、术后组织学确诊的1628例大肠癌患者,病理分期采用Dukes分期,分为A期、B期、C期、D期。同时收集同期在我院外科治疗并经病理组织学确诊为大肠息肉的患者898例。健康对照组为在我院体检的正常人群750例,并经大肠镜检查排除大肠疾病。

1.2 方法 采患者空腹静脉血3 mL,分离血清,立即行CEA、CA199、CA125和CA242的测定。其阳性判定标准: CEA>5 ng/mL, CA199>35 U/mL, CA125>35 U/mL, CA242>15 U/mL。

统计学处理 收集资料,整理得到数据库,数据处理采用SPSS17.0软件进行统计分析,资料正态分布,采用mean±SD描述资料集中趋势,组间样本均数比较采用两个独立样本 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组中4种肿瘤标志物的水平比较 大肠癌患者血清中肿瘤标志物CEA、CA199、CA125和CA242的水平明显高于大肠息肉组和健康人群组。两组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 CEA、CA199、CA125、CA242单项和联合检测 以4项指标的正常上限值作为临界,小于临界值为阴性,大于或等于临界值为阳性,计算敏感性、特异性(敏感性 = 恶性肿瘤组测定指标的阳性例数/该恶性肿瘤组的例数,特异性 = 良性疾病组测定指标的阳性例数/该良性疾病组的例数)结果如表2。综合单一肿瘤标志物可以发现CA242的灵敏度和特异度最高,CEA次之。综合分析各种联合检测结果,发现CEA+CA199+CA125+CA242组合的敏感性和特异性为检测的最佳指标。联合检测可以提高大肠癌诊断的敏感性和特异性。

2.3 大肠癌不同Dukes分期血清CEA、CA199、CA125和CA242检测水平比较 C期、D期大肠癌患者各血清肿瘤标志物水平显著高于A期和B期患者,差异有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.4 大肠癌不同病理类型血清CEA、CA199、

表 1 3组疾病中各血清肿瘤标志物水平 (n , mean \pm SD)

分组	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
大肠癌组	1628	12.35 \pm 7.89 ^{bd}	55.74 \pm 23.63 ^{bd}	48.48 \pm 19.25 ^{bd}	61.37 \pm 33.61 ^{bd}
大肠息肉组	898	3.19 \pm 1.54 ^a	23.37 \pm 10.42 ^b	18.73 \pm 8.51 ^b	10.64 \pm 8.25 ^a
健康对照组	750	1.67 \pm 0.97	13.51 \pm 6.36	8.92 \pm 3.78	8.43 \pm 7.11

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 健康对照组; ^d $P<0.01$ vs 大肠息肉组. CEA: 血清癌胚抗原.

表 2 各肿瘤标志物单项和联合检测结果 (%)

标志物	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
CEA	63.4	62.9	36.6	37.4
CA199	57.2	71.3	42.8	28.7
CA125	41.5	55.7	58.5	44.3
CA242	72.6	73.1	27.4	26.9
CEA+CA199	81.7	88.3	19.3	11.7
CEA+CA199+CA125	92.5	96.8	7.5	3.2
CEA+CA199+CA125+CA242	95.8	98.2	4.2	1.8

表 3 大肠癌不同Dukes分期各血清肿瘤标志物水平 (n , mean \pm SD)

分期	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
A期	236	9.27 \pm 8.55	32.52 \pm 12.76	27.33 \pm 13.04	43.58 \pm 27.91
B期	372	11.31 \pm 8.75 ^a	44.23 \pm 20.50 ^b	30.47 \pm 19.33 ^a	44.11 \pm 23.76 ^b
C期	498	12.56 \pm 9.11 ^{bc}	48.27 \pm 15.48 ^{bc}	42.51 \pm 16.66 ^{bd}	55.43 \pm 28.42 ^{bd}
D期	522	13.92 \pm 8.78 ^{bce}	62.42 \pm 19.22 ^{bdf}	45.83 \pm 17.81 ^{bde}	66.83 \pm 19.74 ^{bdf}

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs A期; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs B期; ^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ vs C期. CEA: 血清癌胚抗原.

表 4 大肠癌不同病理类型各血清肿瘤标志物水平 (n , mean \pm SD)

分组	n	CEA(ng/mL)	CA199(U/mL)	CA125(U/mL)	CA242(U/mL)
腺癌	1417	12.03 \pm 7.22	56.03 \pm 22.11	43.97 \pm 17.43	63.22 \pm 31.72
黏液癌	192	11.59 \pm 8.39	56.27 \pm 21.34	44.11 \pm 16.52	62.94 \pm 32.58
其他癌	19	12.06 \pm 6.75	55.95 \pm 23.25	44.27 \pm 18.21	63.12 \pm 30.39

CA125和CA242检测水平比较 腺癌、黏液癌及其他癌中, 各血清肿瘤标志物水平没有显著差异, 无统计学意义($P>0.05$)(表4).

3 讨论

大肠癌是常见的消化系恶性肿瘤. 在我国, 随着人民生活饮食习惯的改变、人口老龄化的发展及卫生资源分配的不合理, 大肠癌发病率逐年上升^[3]. Ntouroupi等^[4]应用自动扫描荧光显微镜发现92%大肠癌患者外周血中存在肿瘤细胞. 这

就提示我们, 通过检测外周血合适的肿瘤标志物可以筛查出大肠癌. 癌胚抗原在1965年首先由El-Awady等^[5]从大肠癌中发现, 来源于内胚层. CEA 是大肠癌诊断中最常用的一种肿瘤标志物, 但血清中CEA浓度改变常不具有特异性. 另有报道称, 约90%的结肠癌中其表达增加, 但在其他肿瘤中如胃癌、肺癌、壶腹周围癌、卵巢癌等^[6]表达也增加. CA199是唾液酸化的Lewis a血型抗原, 是由单克隆抗体116NS19-9识别的抗原成分^[7], 在多种恶性肿瘤中都有表达, 包括大

■相关报道

朱玉琨、陈恺杰等报道, 血清CA242、CA19-9和CEA的联合检测有利于大肠癌的早期诊断, 也可作为大肠癌治疗药物疗效评价的重要依据. 因此将CEA、CA199、CA125和CA242联合应用筛查大肠癌比单用一种肿瘤标志物效果更好, 可以提高筛查的准确率.

■应用要点

联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,为大肠癌临床筛查提供早期、可靠、简便、安全、有效的方法,联合检测可提高大肠癌的早期诊断率。

肠癌、胰腺癌、卵巢癌等,因此该抗原不宜作为大肠癌筛查的指标。CA125是1981年由BAST发现的一种大分子量糖蛋白,由鼠抗人乳头状囊性卵巢上皮细胞系OC125制备而成,他是一种分化抗原,在来源于体腔上皮衍生物的胎儿组织中升高;还存在于浆液性卵巢癌细胞和浆液性腺癌的组织中,在胃癌、大肠癌和胰腺癌中也有较高的检出率^[8]。CA242是一种黏蛋白,在正常胰腺和结肠黏膜中存在,但表达很低。目前临床上常用的大肠癌肿瘤标志物有CEA、CA199、CA724等,但没有任何一种肿瘤标志物单独使用有较高的灵敏度和特异度。CEA、CA199、CA125和CA242都属于黏蛋白类物质,联合筛查可以弥补单一肿瘤标志物筛查的很多缺陷,提高灵敏度和特异度。

本研究结果发现:大肠癌患者中CEA、CA199、CA125和CA242水平显著高于大肠息肉组和大肠良性疾病组,差异有统计学意义($P<0.05$)。就单项指标而言,CA242的灵敏度和特异度最高,CEA次之。从联合筛查来看,4项指标联合筛查灵敏度和特异度较高,分别为95.8%和98.2%。朱玉琨等^[9]报道血清CA242、CA19-9和CEA的联合检测有利于大肠癌的早期诊断,也可作为大肠癌治疗药物疗效评价的重要依据。陈恺杰^[10]亦报道了CEA与CA199、CA242联合检测可使其敏感性提高(83.6% vs 46.7%)。因此将CEA、CA199、CA125和CA242联合应用筛查大肠癌比单用一种肿瘤标志物效果更好,可以提高筛查的准确率。而且筛查方法简单、无创,因此我们认为联合这4种肿瘤标志物可以广泛地应用于大肠癌的筛查。在大肠癌的不同Dukes分期中血清CEA、CA199、CA125和CA242检测水平相比较,C期、D期各肿瘤标志物水平显著高于A期和B期,差异有统计学意义($P<0.05$)。这表明血清肿瘤标志物阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后有可能越差。主要原因是由于CA199、CA242、CEA和CA125能起到细胞间黏附分子的作用,这在肿瘤转移过程中具有重要意义。这与吴健雄等^[11]、胡毅等^[12]的研究相一致。也有研究表明^[13]术前血清CEA水平对大肠癌的诊断和预后有意义,CEA会随分期的提高而增加;但CEA、CA199二者联合检测对提示复发和预后更有价值,而在不同病理类型的大肠癌患者中,CEA、CA199、CA125和CA242

的表达水平没有显著差异,差异无统计学意义($P>0.05$)。这与燕世德等的研究一致^[14],但也有一些学者认为^[15]血清肿瘤标志物的阳性表达率与病理类型有一定相关性。因此,对于CEA、CA199、CA125和CA242阳性表达水平高低与不同病理类型是否有关,有待进一步商榷。

到目前为止,我们尚未发现一个既敏感又特异的肿瘤标志物可单独应用于临床结直肠癌的检测。因此,联合CEA、CA199、CA125、CA242检测大肠癌,应用多变量分析的方法,可弥补单项检测的不足,提高临床诊断的准确性。而且,以上4种血清肿瘤标志物阳性表达水平高低大肠癌的分期有关,阳性表达水平越高提示分期越晚,患者的预后有可能越差。

4 参考文献

- 1 张会涛,刘晓琨,沈滨,杜雅菊. 大肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 991-995
- 2 贺燕丽,王民宪,李忠廉. 联合检测血清癌胚抗原和糖链抗原-199对消化系统恶性肿瘤的诊断意义. 中华消化杂志 2010; 30: 560
- 3 Zhao P, Dai M, Chen W, Li N. Cancer trends in China. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 281-285 [PMID: 20085904 DOI: 10.1093/jjco/hyp187]
- 4 Ntourogi TG, Ashraf SQ, McGregor SB, Turney BW, Seppo A, Kim Y, Wang X, Kilpatrick MW, Tsipouras P, Tafas T, Bodmer WF. Detection of circulating tumour cells in peripheral blood with an automated scanning fluorescence microscope. *Br J Cancer* 2008; 99: 789-795 [PMID: 18682708 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604545]
- 5 El-Awady S, Lithy R, Morshed M, Khafagy W, Abd Monem H, Waleed O, Badr S, Fekry A, El Nakeeb A, Ghazy H, El Yamany M, Metwally T, El-Arman M, Farid M. Utility of serum preoperative carcinoembryonic antigen in colorectal cancer patients. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 361-366 [PMID: 19579599]
- 6 Lim YK, Kam MH, Eu KW. Carcinoembryonic antigen screening: how far should we go? *Singapore Med J* 2009; 50: 862-865 [PMID: 19787171]
- 7 Rosty C, Goggins M. Early detection of pancreatic carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002; 16: 37-52 [PMID: 12063828 DOI: 10.1016/S0889-8588(01)00007-7]
- 8 田力,王晓艳,沈守荣. 肿瘤标志物CA199、CA242、CEA、CA125联合检测在胰腺癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3047-3050
- 9 朱玉琨,瞿良,袁荣国,张悦,李雪梅. 大肠癌患者血清CA242、CA19-9和CEA水平测定的临床意义. 肿瘤研究与临床 2004; 16: 227-229
- 10 陈恺杰. 3种血清肿瘤标志物在诊断大肠癌中的价值. 广东医学院学报 2005; 23: 384-385
- 11 吴健雄,余宏超,绍永孚,韩晓红,张郁. CEA和CA242在大肠癌中的诊断意义. 中华肿瘤杂志 1995; 17: B438
- 12 胡毅,刘兵,杨旭. 血清CEA、CA242、CA19-9及其联检对大肠癌的诊断价值. 中国普外基础与临床杂志

- 2007; 11: 700
- 13 Grotowski M. [Antigens (CEA and CA 19-9) in diagnosis and prognosis colorectal cancer]. *Pol Merkur Lekarski* 2002; 12: 77-80 [PMID: 11957811]
- 14 燕世德, 江鸣, 钱小星. 血清CA125、CA19-9、CEA检测在大肠癌诊断中的临床价值. *安徽医药* 2011; 15: 1404-1406
- 15 Chen C, Chen LQ, Yang GL, Li Y. Value of tumor markers in diagnosing and monitoring colorectal cancer and strategies for further improvement: analysis of 130 cases. *Ai Zheng* 2007; 26: 1221-1226 [PMID: 17991322]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文有一定的创新性和科学性, 立题新颖, 样本多, 设计合理 结论可信, 是一篇有一定学术价值的论文, 对大肠癌的诊断及治疗有一定的临床意义。

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达

林 艳, 林连捷, 崔 月, 郑长青

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种累及直肠和结肠的慢性非特异性炎症性疾病, 该病呈反复发作的慢性病程。目前病因尚未明确, 近年来我国的发病率逐年上升, 但治疗方法无明显进展, 探寻新的治疗方法是其研究的重点。

林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

林艳, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17

作者贡献分布: 此课题由郑长青与林艳设计; 研究过程由林艳、林连捷及崔月完成; 数据分析由林艳与林连捷完成; 本论文写作由林艳完成。

通讯作者: 郑长青, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。zhengchangqing88@163.com

电话: 024-96615-26211

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-07-18

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis

Yan Lin, Lian-Jie Lin, Yue Cui, Chang-Qing Zheng

Yan Lin, Lian-Jie Lin, Yue Cui, Chang-Qing Zheng, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Shenyang, No. F10-205-1-17

Correspondence to: Chang-Qing Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zhengchangqing88@163.com

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-07-18

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To detect the expression of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in ulcerative colitis (UC) and to assess the association of TSLP expression with C reactive protein and erythrocyte sedimentation rate.

METHODS: A total of 30 UC patients and 20 healthy controls were enrolled in the study. TSLP mRNA expression was measured by real-time PCR. Serum levels of CRP were determined by rate nephelometry, and ESR was measured using an automatic ESR analyzer.

RESULTS: TSLP mRNA expression was significantly higher in UC than in control tissue ($55.6 \pm$

3.4 vs 17.6 ± 2.8 , $P < 0.05$). TSLP mRNA expression was positively correlated with CRP and ESR ($r = 0.492$, $P < 0.05$; $r = 0.324$, $P < 0.01$). TSLP mRNA expression in UC was positively related to the extent of disease and disease activity index ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: High expression of TSLP mRNA in UC is correlated with disease activity, which suggests that TSLP may play an important role in the pathogenesis of UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Thymic stromal lymphopoietin; Ulcerative colitis; C reactive protein; Erythrocyte sedimentation rate

Lin Y, Lin LJ, Cui Y, Zheng CQ. Expression of thymic stromal lymphopoietin in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2606-2610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2606>

摘要

目的: 探讨胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠黏膜组织中的表达, 分析TSLP基因表达水平与C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)的相关性及其临床意义。

方法: 收集30例UC患者和20例健康对照者为研究对象, 采用实时定量PCR法对比UC患者病变部位结肠黏膜和对照组结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平。速率散射比浊法测定CRP水平, 全自动红细胞沉降系统分析仪测定ESR水平。

结果: UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平为(55.6 ± 3.4), 明显高于对照组(17.6 ± 2.8 , $P < 0.05$)。UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达与CRP及ESR水平呈正相关($r =$

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

0.492, $P < 0.05$; $r = 0.324$, $P < 0.01$); TSLP mRNA的表达与病变范围及疾病活动指数明显相关: 随着疾病活动度的增加, TSLP的表达增加($P < 0.05$), 随着病变范围的扩大TSLP表达增加($P < 0.01$).

结论: UC患者结肠组织中TSLP mRNA表达水平明显高于对照组, 增高的TSLP基因水平与疾病活动度呈正相关, 提示TSLP在UC的发病中可能起到重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胸腺基质淋巴细胞生成素; 溃疡性结肠炎; C反应蛋白; 红细胞沉降率

核心提示: 本研究显示溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠黏膜组织中胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)mRNA表达水平增高, 而且增高的TSLP水平与疾病活动度呈正相关, 提示TSLP参与了UC的发生与发展.

林艳, 林连捷, 崔月, 郑长青. 胸腺基质淋巴细胞生成素在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2606–2610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2606>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明的结肠、直肠慢性非特异性炎症性疾病, 虽然UC与克罗恩病(Crohn's disease, CD)同属炎症性肠病范畴, 但其发病机制存在差异. 对于CD已有比较明确的认识, 认为它是一种Th1型反应, 而对于UC的免疫学模式目前仍缺乏一致的结论, 研究表明UC患者的T细胞反应趋于低下, 表现为不典型Th2型细胞反应的特征^[1]. 目前认为病理性Th2细胞及Th17细胞在UC的发病过程中起到至关重要的作用^[2,3]. 胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)是肠道上皮细胞分泌的重要细胞因子^[4], 研究表明TSLP可强烈活化树突状细胞(dendritic cell, DC), 诱导病理性Th2型细胞反应^[5], 进而参与免疫、过敏及炎症过程, 参与肠道黏膜免疫的调节. 由此可见TSLP与UC可能存在相关性, 为了进一步明确UC患者肠道黏膜是否存在TSLP的异常表达及TSLP是否参与了UC的发生与发展, 本研究应用实时定量PCR法检测TSLP基因在UC

患者结肠黏膜组织中的表达, 分析TSLP与C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)及UC临床特征的相关性, 探讨其临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集中国医科大学附属盛京医院就诊的30例UC患者, 所有病例具备完整的临床资料登记, 经临床、实验室、影像、内镜及病理组织学检查后获得诊断, 诊断标准参照2007年中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组提出的《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[6]. 采用Mayo评分标准进行临床疾病活动性评分. 健康对照组20例, 来自健康体检者, 均无UC、CD、肠道肿瘤及其他自身免疫性疾病病史, 所有受试对象均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 获取结肠组织: UC患者及健康体检者均行结肠镜检查, UC患者取病变严重部位组织3块, 对照组取正常肠黏膜组织3块, 于-80℃冰箱保存.

1.2.2 应用Real-time PCR方法检测结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达: 按试剂盒说明完成结肠黏膜组织总RNA的抽提纯化和cDNA的合成. TSLP和内参GAPDH的引物由上海生工生物公司合成. 引物序列如下: TSLP上游引物为5'-CCCAGGCTATTCGGAAGCTCAG-3', 下游引物为5'-CGCCACAATCCTTGTAATT GTG-3'; GAPDH上游引物为5'-TCCCTCAAGATTGT-CAGCAA-3', 下游引物为5'-AGATCCACAAC-GGATACATT-3'. 冰上配制PCR反应液. Taq酶、dNTP及缓冲体系采用2×SYBR Premix Ex Taq™ PCR混合液. Real-time PCR反应体系如下: 2×SYBR Premix Ex Taq™ 1 μL, 模板cDNA 2 μL, 上下游引物各0.5 μL, 加水至20 μL. 扩增条件为: TSLP: 94℃-4 min→(94℃-60 s→52℃-30 s→72℃-60 s)×35→72℃-10 min; 和GAPDH: 94℃-5 min→(94℃-30 s→55℃-30 s→72℃-30 s)×35→72℃-10 min. 反应结束后分析结果. Q-PCR结果使用比较阈值法来进行定量分析.

1.2.3 UC患者CRP及ESR的测定: 应用自动生化免疫分析仪, 测定CRP血清浓度(mg/L); 应用全自动红细胞沉降系统分析仪测定血清ESR浓度(mm/h).

1.2.4 疾病活动指数的评估: 应用Mayo评分方法(表1)对UC患者的疾病活动度进行分级. 记录UC

■研究前沿

虽然UC的病因和发病机制尚未完全明确, 目前已知肠道黏膜免疫系统异常反应所导致的炎症反应在其发生、发展、转归过程中始终发挥重要作用. 其中以免疫细胞功能异常的研究最为深入, 尤其是辅助性T细胞(Th1、Th2、Th17)及调节性T细胞在UC的发病中起到至关重要的作用.

■相关报道

胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)作为过敏性炎症的重要启动因子,其在过敏性疾病如哮喘、过敏性鼻炎、过敏性皮炎等疾病中的研究已很深入,已有研究显示肠道上皮细胞分泌TSLP, TSLP通过与肠道黏膜树突状细胞的相互作用参与肠道黏膜免疫反应的调节。

表 1 溃疡性结肠炎患者疾病活动指数评分

项目	0分	1分	2分	3分
腹泻	正常	1-2次/d	3-4次/d	>5次/d
出血	无	微量	明显	大量
黏膜外观	正常	轻度炎症、易脆	中度炎症、易脆	渗出、自发出血
医师总体评价	正常	轻度	中度	重度

3-5分轻度; 6-10分中度; 11-12分重度。

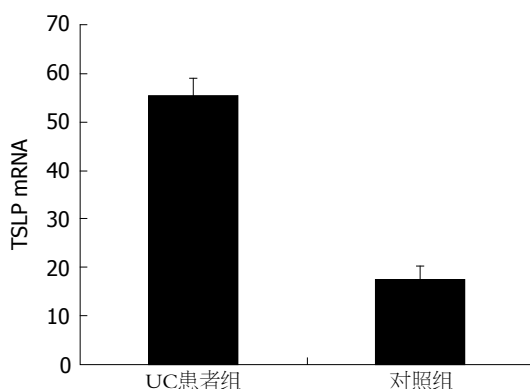


图 1 溃疡性结肠炎患者和对照组结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平. TSLP: 胸腺基质淋巴细胞生成素; UC: 溃疡性结肠炎。

患者大便性状和便血情况, 结肠镜下黏膜外观由经验丰富的内镜医师评估, 医师总体评价由3名主治医师共同评价。

统计学处理 数据采用SPSS13.0软件包进行处理, 各组数据以mean ± SD表示, 两组间比较采用t检验, 两组间相关分析采用方差分析; 相关性分析采用Spearman相关分析方法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TSLP在UC患者和对照组结肠黏膜组织中的表达 UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平为(55.6 ± 3.4)明显高于对照组(17.6 ± 2.8, $P < 0.05$, 图1)。

2.2 TSLP mRNA表达水平与CRP及ESR的关系 入组UC患者中, 活动期患者22例, 缓解期患者8例, 活动期患者血清CRP及ESR的水平分别为(11.2 mg/L ± 1.96 mg/L和38.6 mm/h ± 2.29 mm/h), 均高于缓解期UC患者(5.12 mg/L ± 1.54 mg/L和28.7 mm/h ± 5.41 mm/h, $P < 0.01$)。UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA的表达水平与CRP及ESR的相关性分析表明, TSLP与CRP及ESR呈正相关($r = 0.492, P < 0.05$; $r = 0.324, P < 0.01$)。

2.3 TSLP mRNA表达水平与UC患者临床特征的关系 UC患者结肠黏膜组织中TSLP的基因表达水平与患者年龄、性别无关, 但与疾病活动度及病变范围具有相关性。应用Mayo评分标准将UC的疾病活动度分为轻、中、重3组, 随着疾病活动度的增加, TSLP的表达增加, 各组间比较TSLP的表达存在差异($P < 0.05$); UC患者内镜下病变范围与TSLP表达的相关性分析提示随着病变范围的扩大TSLP表达增加, 直肠与左半结肠组相较无差别($P > 0.05$), 而与广泛型、全结肠型相比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$, 表2)。

3 讨论

UC的病因尚未明确, 免疫功能紊乱是其重要的发病机制, $CD4^+$ 辅助T细胞其亚型Th1、Th2、Th17和他们分泌的细胞因子在UC发病中起到重要的作用^[7]。传统观念认为UC患者T细胞功能反应趋于低下, 主要是由白介素-4(interleukin-4, IL-4)和IL-13促进分化的Th2细胞占优势, 随着研究的不断深入, Th17细胞的发现拓宽了对UC免疫发病机制的认识。目前认为Th1/Th2及Th17/Treg平衡转化关系的变化在UC的形成过程中起重要作用^[8]。同样参与该平衡转化调节的细胞因子如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-23、IL-17、IL-10、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)也逐渐成为炎症性肠病研究领域的热点^[9], 相关细胞因子的研究为UC的治疗提供了新的靶点。

除了肠道免疫细胞, 肠上皮细胞在UC发病过程中的作用受到越来越多的关注。研究表明肠上皮细胞具有丰富的生物学功能, 他不仅是黏膜屏障的主要组成部分, 而且直接参与内外信息转导, 在维持机体内环境的稳态, 参与免疫防御及维持损伤修复平衡等方面发挥重要作用^[10]。肠上皮细胞可分泌多种细胞因子包括TSLP、TGF- β 、IL-10、维甲酸、前列腺素E2

表 2 溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA水平与临床特征的相关性 (n , mean \pm SD)

临床特征	n	TSLP mRNA表达
性别		
男	12	55.84 \pm 4.59
女	18	54.92 \pm 5.28
年龄(岁)		
≤ 60	18	55.7 \pm 4.81
> 60	12	54.78 \pm 4.16
临床活动度(Mayo评分)		
轻度	14	49.61 \pm 2.16
中度	10	53.4 \pm 2.62
重度	6	59.74 \pm 2.12
病变范围		
直结肠炎	8	50.88 \pm 1.26
左半结肠炎	11	51.58 \pm 1.45
广泛结肠炎	6	58.2 \pm 1.31
全结肠炎	5	60.53 \pm 2.31

TSLP: 胸腺基质淋巴细胞生成素。

等, 他们是促进肠道免疫耐受, 维持肠道内环境稳态所必需的细胞因子^[11]。虽然TGF- β 及IL-10等细胞因子在UC中的作用已有深入研究, 但TSLP与UC的相关性研究鲜有报道, TSLP是否参与UC的发病尚未明确。

TSLP由Brandt等^[12]于1994年从胸腺基质细胞中首次分离鉴定, 随着研究的深入, TSLP在免疫应答中的作用引起了人们的广泛关注。TSLP可直接活化DCs, 微弱上调DCs表面的HLA-DR和CD86的表达^[13], 强烈诱导共刺激分子CD40和CD80的表达, 并选择性激活病理Th2型细胞反应, 从而在过敏、炎症及免疫疾病中扮演重要的角色^[14,15]。UC作为肠道慢性炎症性疾病, 其发生发展与免疫、炎症及过敏反应密切相关, 目前TSLP在UC发病中的作用尚未明确, 已有研究表明与过敏性疾病中TSLP的致病性不同, TSLP对于肠道炎症具有保护作用^[16], Reardon等^[17]应用TSLPR基因敲除小鼠建立的炎性肠病动物模型, 获得了较正常对照组更为严重的肠道炎症反应, 进一步提示TSLP参与了肠道炎症的发生, 并发挥下调炎症反应的作用。

为进一步明确TSLP与UC的相关性, 我们采用Real-time PCR法检测UC患者及健康对照者结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平, 结果发现UC患者结肠黏膜中TSLP的表达显著高于健康对照组, 提示TSLP在炎症肠道黏膜中存在异常

表达。我们进一步评估了TSLP的表达水平与反应UC患者疾病活动状态的指标CRP及ESR的相关性, 数据显示其与CRP及ESR呈正相关, 且与CRP水平的相关性更高。

UC患者结肠黏膜组织中TSLP的表达与患者临床特征的相关性研究表明, 患者的年龄、性别与TSLP表达水平无相关性, 而与疾病的活动指数及内镜下病变范围明显相关, 随着UC病变范围的扩大, 病变炎症程度的加重, TSLP的表达增加。

总之, UC患者结肠黏膜组织中TSLP mRNA表达水平增高, 增高的TSLP水平与疾病活动度呈正相关, 提示TSLP参与了UC的发生与发展, 深入研究TSLP在UC发病中的作用可能为UC提供新的治疗靶点。而TSLP在UC黏膜组织中的异常表达发挥的是促炎作用还是抑制炎症反应作用还有待于进一步的研究。

4 参考文献

- Bamias G, Kaltsa G, Ladas SD. Cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Discov Med* 2011; 11: 459-467 [PMID: 21616044]
- Latinne D, Fiasse R. New insights into the cellular immunology of the intestine in relation to the pathophysiology of inflammatory bowel diseases. *Acta Gastroenterol Belg* 2006; 69: 393-405 [PMID: 17343083]
- Dong Z, Du L, Xu X, Yang Y, Wang H, Qu A, Qu X, Wang C. Aberrant expression of circulating Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with active and inactive ulcerative colitis. *Int J Mol Med* 2013; 31: 989-997 [PMID: 23446770 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1287]
- Eri RD, Adams RJ, Tran TV, Tong H, Das I, Roche DK, Oancea I, Png CW, Jeffery PL, Radford-Smith GL, Cook MC, Florin TH, McGuckin MA. An intestinal epithelial defect conferring ER stress results in inflammation involving both innate and adaptive immunity. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 354-364 [PMID: 21107311 DOI: 10.1038/mi.2010.74]
- Han H, Headley MB, Xu W, Comeau MR, Zhou B, Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin amplifies the differentiation of alternatively activated macrophages. *J Immunol* 2013; 190: 904-912 [PMID: 23275605 DOI: 10.4049/jimmunol.1201808]
- 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 488-495
- Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1152-1167 [PMID: 19592695 DOI: 10.1136/gut.2008.163667]
- Raza A, Yousaf W, Giannella R, Shata MT. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2012; 8: 161-168 [PMID: 22288454 DOI: 10.1586/eci.11.96]
- Múzes G, Molnár B, Tulassay Z, Sipos F. Changes

■创新盘点

目前关于TSLP与UC的相关性研究很少, 相关报道主要集中于实验动物及细胞水平的研究, 本研究对象为UC患者, 通过检测患者肠黏膜组织中TSLP的表达更直接地判定TSLP与疾病的相关性。

■应用要点

探讨TSLP在UC患者结肠黏膜组织中的表达具有重要意义, 该研究结果可能为UC的治疗提供新的治疗靶点。

■同行评价

针对UC的免疫机制研究意义重大,不仅可以揭示疾病的发病机制,而且可以探究新的治疗靶点,为临床提供新治疗手段。

- of the cytokine profile in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5848-5861 [PMID: 23139600 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5848]
- 10 Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K. Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4811-4822 [PMID: 23002355]
- 11 Lee MJ, Lee JK, Choi JW, Lee CS, Sim JH, Cho CH, Lee KH, Cho IH, Chung MH, Kim HR, Ye SK. Interleukin-6 induces S100A9 expression in colonic epithelial cells through STAT3 activation in experimental ulcerative colitis. *PLoS One* 2012; 7: e38801 [PMID: 22962574 DOI: 10.1371/journal.pone.0038801]
- 12 Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J Clin Cell Immunol* 2011; 2: 110 [PMID: 21994899]
- 13 Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, Omori M, Zhou B, Ziegler SF. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 193-219 [PMID: 17129180]
- 14 Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 789-815 [PMID: 15032597]
- 15 Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 845-852 [PMID: 22939755 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.07.010]
- 16 Tanaka J, Saga K, Kido M, Nishiura H, Akamatsu T, Chiba T, Watanabe N. Proinflammatory Th2 cytokines induce production of thymic stromal lymphopoietin in human colonic epithelial cells. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1896-1904 [PMID: 19757042 DOI: 10.1007/s10620-009-0979-x]
- 17 Reardon C, Lechmann M, Brüstle A, Gareau MG, Shuman N, Philpott D, Ziegler SF, Mak TW. Thymic stromal lymphopoietin-induced expression of the endogenous inhibitory enzyme SLPI mediates recovery from colonic inflammation. *Immunity* 2011; 35: 223-235 [PMID: 21820333 DOI: 10.1016/j.immuni.2011.05.015]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征

周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛

周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛, 成都中医药大学针灸推拿学院
四川省成都市 610075

周思远, 主要从事针刺治疗功能性胃肠病的效应和机制研究。

国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2011CB505200

四川省教育厅科研基金资助项目, No. 12TD002

作者贡献分布: 此文文献分析、写作由周思远与刘婷完成; 文献检索由周思远与覃海知完成; 李瑛审校。

通讯作者: 李瑛, 教授, 610075, 四川省成都市金牛区十二桥路37号, 成都中医药大学针灸推拿学院. jiale@mail.sc.cninfo.net
电话: 028-66875819

收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation

Si-Yuan Zhou, Ting Liu, Hai-Zhi Qin, Ying Li

Si-Yuan Zhou, Ting Liu, Hai-Zhi Qin, Ying Li, College of Acupuncture and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China

Supported by: the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program), No. 2011CB505200; and the Scientific Foundation of Department of Education of Sichuan Province, No. 12TD002

Correspondence to: Ying Li, Professor, College of Acupuncture and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 37 Shierqiao Road, Jinniu District, Chengdu 610075, Sichuan Province, China. jiale@mail.sc.cninfo.net

Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To evaluate the contents, reliability, validity and responsiveness of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation.

METHODS: A search of the CNKI database and PubMed database was performed to find the scales about the symptoms and quality of life of constipation. The contents, reliability, validity and responsiveness of these scales were evaluated.

RESULTS: A total of 11 commonly used constipation scales were screened out, including 7

scales associated with constipation symptoms, 3 scales about constipation related quality of life, and 1 scale about stool form. The items of symptom scales included frequency of bowel movement, evacuation difficulty, feeling of incomplete evacuation, stool form, and type of management methods. The items of quality of life scales were associated with physiology, psychology and social function. These scales could be evaluated by the patient himself/herself or by the doctor. The number of the items was between 3 and 28, and the lookback time was between 1 week and several years. Only a few scales mentioned the time needed to finish it. Most of the scales had Cronbach's α greater than 0.7 and ICC value greater than 0.7. The score between different subjects or between pre-and post-treatment was different significantly.

CONCLUSION: Commonly used scales for constipation are designed reasonably, with satisfying reliability, validity and responsiveness. Suitable scales should be chosen based on different conditions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Constipation; Clinical effect; Scale

Zhou SY, Liu T, Qin HZ, Li Y. Characteristics of commonly used scales for diagnosis and treatment outcome evaluation in constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2611-2616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2611>

摘要

目的: 评价临床常用的便秘诊断和疗效相关量表的内容、信度、效度和反应度。

方法: 通过检索中国知网全文数据库和PubMed数据库中便秘相关的诊断和疗效评价量表, 进行评价。

结果: 筛选出了目前常用的便秘相关量表11个, 包括便秘相关症状量表7个, 便秘相关生

■背景资料

功能性便秘是功能性胃肠病的一种, 由于缺乏明确的器质性病变和证据支持, 其临床诊断和疗效的评价多依赖于症状进行判定。因此能够真实、敏感的反映功能性便秘患者症状和生活质量的量表对疾病的诊疗具有重要意义。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研发前沿

临床量表的选择是疾病诊疗和临床研究中的关键问题。一个好的量表,其条目设计能够反映疾病特点,有一定的特异性;有较好的信效度、反应度;且容易理解,便于应用。选取与研究对象、研究目的最为吻合的量表尤为重要。

活质量量表3个,大便性状量表1个。症状量表的条目设置主要包括排便频率、排便困难程度、排便不尽感、大便性状和排便时需要帮助的类型等;生活质量的评价条目主要涉及生理、心理和社交功能。量表的评价方式分为自评和他评,条目数目从3条到28条不等,回顾时间1 wk到数年不等,少数量表提及了完成时间。量表测试显示多数量表的信度Cronbach's α 系数 >0.7 ,效度ICC值 >0.7 ,不同测试人群及患者治疗前后的测量结果存在统计学意义。

结论: 临床常用便秘量表的设计合理,信度、效度和反应度较好,后续研究者应根据实际情况选择量表。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 便秘; 临床疗效; 量表

核心提示: 本文分析了目前常用的便秘症状和生活质量评分量表,多数量表的条目设计合理,信效度和反应度较好。由于设计初衷和文化背景的不同,后续研究者在使用量表时应根据情况选择,并在必要时进行量表测试,以适用不同的人群。

周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛. 临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2611-2616 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2611.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2611>

0 引言

功能性便秘是消化内科的常见疾病,属于功能性胃肠病的一种,以持续的排便减少或排便不尽感为主要临床特征。近年来,随着生活方式和饮食结构的改变,其发病率呈逐年增加的趋势,全球发病率为1.9%-27.2%不等,平均约为14.8%^[1]。功能性便秘患者可以表现出明显的疑病和癔病型人格特征,而过度治疗又可能加重患者的精神负担,强化不良个性,加重和恶化病情,严重影响生活质量^[2-4]。功能性便秘缺乏明确的器质性病变和其他证据支持,临床诊断和疗效评价多根据其症状判定,能够真实、敏感的反映患者病情的疾病相关量表在诊疗中的价值较大。因此本文对目前较为常用的便秘相关量表进行述评,以期后续功能性便秘临床研究中疗效评价量表的选择提供思路。

1 材料和方法

1.1 材料 本文以“便秘”、“评价”、

“量表”、“问卷”和“constipation”、“scale”、“assessment”、“questionnaire”作为中英文检索词在中国知网期刊全文数据库和PubMed数据库进行检索。时间设定为1980-2013年,语种设定为中文和英文。手工排除临床疗效研究,便秘发病因素研究及综述类文章,共纳入中外文献17篇。

1.2 方法 依次分析纳入文献中所涉及量表的条目数量、内容、评价方式、计分法则、追溯时间、完成时间、量表得分意义、获取方式以及量表的信度、效度和反应度。

2 结果

2.1 便秘相关的症状评价量表 本文纳入与便秘症状评价量表相关的论文11篇,量表7个(表1)。

2.1.1 便秘评估量表(constipation assessment scale, CAS): CAS包含8个条目,预计在2 min以内完成评价,可以快速判断患者有无便秘以及便秘的严重程度^[5]。该量表分别对腹部鼓胀或胀气、排气数量的变化、排便频率降低、稀便、直肠梗阻和压迫感、排便时伴直肠疼痛、粪量较少、排便费力、排便不尽感、排便失败共8个与便秘紧密相关的症状进行评估,总分为0-16分。其中稀便这个条目,虽然在便秘患者中发生率不高,但是总体得分较高的患者常出现该症状,因此该量表的设计者仍然保留这个条目。由CAS还扩展出了孕妇便秘评估量表(constipation assessment scale for pregnancy),专门用于孕妇的相关情况评价。包括CAS的所有条目,但积分采用5分法,可以用于评估孕妇是否出现了便秘^[6]。

2.1.2 便秘评分系统(constipation scoring system, CSS/cleveland clinic score, CCS): 研究者通过对232例患者进行便秘问卷的评估和客观检查,包括结肠传输时间、直肠肛门测压、排粪造影等。将便秘评分中的症状与客观检查结果进行皮尔森相关系数分析,筛选出8个与便秘有显著相关性的条目,分别为: 排便频率、排便困难程度、排便不尽感、腹痛、排便时间、需要帮助的类型、每24 h有便意而解不出来的次数及便秘病程。量表总分最低为0分,最高为30分,得分超过15分可判定为便秘^[7]。

2.1.3 Knowles-Eccersley-Scott症状评分(knowles-eccersley-scott-symptom, KESS): KESS是基于CSS的优化版本,不仅可以评估患者的便秘病情,还可对患者进行分型。该量表包含11个条目,预计在5 min内完成,最高分39分,得分越高,

病情越严重. 评价的项目包括便秘病程、泻药的使用、排便频率、是否出现有便意而排便失败的情况、排便不尽感、腹部疼痛、腹胀、灌肠或者用手帮助的次数、排便时间、排便困难程度以及不用泻药时的粪便性状. 根据量表中的症状, 可以将便秘患者分为慢性传输型便秘(slow-transit constipation, STC)、直肠排出失调型便秘(rectal evacuated disorder, RED)和混合型便秘, 其中对直肠排出失调型的识别率最高^[8].

2.1.4 便秘患者症状自评问卷(patient assessment of constipation symptom, PAC-SYM): PAC-SYM由粪便性状、直肠症状和腹部症状3个部分共12个条目构成. 该量表采用5分法进行评价, 按症状严重程度由无到非常严重分别计为0-4分. 对排便次数减少、排便费力、排便疼痛、排便不尽感、粪质坚硬、粪量少、胃痛、腹部痉挛疼痛、腹部胀满、有便意而难以排出、直肠出血或撕裂、直肠烧灼感等症状进行评估^[9]. 近年来, 国内学者经过该量表开发机构的授权, 获得了中文版的PAC-SYM, 并对其进行了信效度的测试^[10].

2.1.5 出口梗阻综合征评分(obstructed defaecation syndrome score, ODS score): 出口梗阻综合征评分由8个条目组成, 总分为0-31分. 量表评价的内容包括排便时间、每天有便意的次数、是否需要用手帮助排便、使用泻剂的次数、灌肠的次数、排便不尽感、排便费力程度和大便性状. 健康人的得分多在2分以下, 而ODS患者的得分多在10分以上^[11].

2.1.6 肠道功能指数(bowel function index, BFI): BFI只有3个条目, 包括排便困难程度、排便不尽感和患者的自我判断. 医生需要患者根据过去1 wk的排便情况对以上3个条目进行评分, 没有感觉为0分, 非常困难为100分, 每个问题的得分在0-100之间, 3个问题的平均得分为BFI的最后得分, 分数越高提示病情越重. 非便秘患者的BFI得分在28.8以下, 判断疗效时, BFI的改变大于12分, 提示有临床意义, 而小于5分时可以认为无变化^[12-14].

2.1.7 华人便秘问卷: 由于文化背景的不同, 在量表的使用过程中可能存在因理解差异而导致的信度效度降低, 对此香港大学的研究者们设计了一款专门针对华人的功能性便秘诊断和评估问卷. 该问卷从24个条目中最终筛选出6个最有价值的条目, 分别为有便意而不能解便的严重程度; 周大便次数小于3次的频率; 解便不尽感

的严重程度; 大便干硬的严重程度; 泻剂的使用次数以及腹胀的严重程度. 总分超过5分即可认为是便秘^[15].

2.2 便秘相关的生活质量评价量表 本文筛选出便秘生活质量评价相关论文5篇, 涉及3个量表(表1).

2.2.1 便秘患者生活质量自评问卷(patient assessment of constipation quality of life questionnaire, PAC-QOL): PAC-QOL是对慢性便秘患者生活质量进行评估的一个特异性量表, 既可与PAC-SYM联合使用, 也可单独使用. PAC-QOL包含28个条目, 分为担心和关注的事件(11个条目)、躯体不适(4个条目)、心理不适(8个条目)和满意度(5个条目)4个维度. 每个条目采用5分法计分, 病情越严重, 得分越高^[16]. 国内研究者经授权后引进了中文版的PAC-QOL量表. 中文版的基本结构与原量表一致, 分为28个条目, 生理、社会心理、担忧和满意度4个维度, 但是对于条目4“感觉要排便, 但解不出来”归入了担忧维度而不是原版量表的生理维度, 其次对部分条目的语言表达进行了修改, 以帮助国人理解^[17,18].

2.2.2 便秘相关生活质量评分(constipation related quality of life, CRQOL): 便秘相关生活质量评分同样是一款针对便秘的疾病特异性生活质量评估工具, 从易受便秘影响的身体形象、饮食、情绪和与他人的关系等方面筛选出18个条目, 分为4个维度. 社交障碍包括5个条目: 与亲人相处、与同事相处、与朋友相处、与陌生人相处和交新朋友的影响. 忧虑包括6个条目: 因症状不能改善而气馁; 对不能解决肠道问题而感到无助; 因治疗无效而泄气; 担心症状会一直存在; 因肠道问题影响生活而感到沮丧; 担心症状可能意味着更严重的身体问题. 饮食习惯包括3个条目: 你所吃的食物种类有限; 你所吃的食物总量有限; 不吃不喜欢的食物. 如厕态度包括4个条目: 因不在家使用卫生间感到尴尬; 对使用公用卫生间感到焦虑; 对远离卫生间感到焦虑; 对如厕时间过长感到尴尬. 所有条目均采用5分法评分, 得分越高, 对生活质量影响越大^[19].

2.2.3 便秘相关残疾量表(constipation related disability scale, CRDS): 便秘相关残疾量表主要评估便秘对于患者日常生活的影响, 分为工作/休闲能力和日常生活能力两大块进行, 包含以下13个条目: 从事需要久坐的活动; 从事需要弯腰的活动; 购物或者干杂活; 保护家人和朋友; 同子女或者孙辈一同活动; 参与社交活动、聚会或庆祝; 在家中待客; 到朋友或亲人家中做客;

■相关报道

宋玉磊, 金洵等是少有的针对外文原版的便秘问卷PAC-SYM和PAC-QOL, 进行了汉化版本的信度、效度和反应度检测, 并对部分条目的表达进行了文化调适, 以方便国人理解. 研究结果表明中文版本的PAC-SYM和PAC-QOL满足量表设计的要求, 可以用于临床.

■创新盘点

本文针对不同的便秘症状和生活质量评分量表,分析其主要目的、条目内容、计分方式、量表回顾时间、完成时间、获取方式、得分意义、信效度、反应度等,是目前少有的针对便秘量表进行系统梳理的文章。

表 1 便秘相关量表描述

分类	名称	评价方式	评价条目	与罗马Ⅲ标准重合的条目	回顾时间	完成时间
症状评分量表	CAS	自评	8	排便频率、困难程度、不尽感、直肠梗阻感	1 wk	2 min
	CSS	他评	8	排便频率、困难程度、不尽感、需要帮助的类型	20年	不详
	KESS	他评	11	排便频率、困难程度、不尽感、需要帮助的类型、大便性状	20年	5 min
	PAC-SYM	自评	12	排便困难程度、不尽感、大便性状	2 wk	不详
	ODS score	他评	8	排便困难程度、不尽感、需要帮助的类型、大便性状	1 mo	不详
	BFI	他评	3	排便苦难程度、不尽感	1 wk	不详
生活质量评分量表	华人便秘问卷	他评	6	排便频率、不尽感、大便性状	3 mo	不详
	PAC-QOL	自评	28	/	2 wk	11 min
	CRQOL	他评	18	/	1年	不详
	CRDS	自评	13	/	1 wk	不详

散步;专注于某件事;外出旅游;参加文体活动,如自行车、游泳、散步;参加休闲活动,如看电影、俱乐部活动。每个条目从没有困难到不可能完成,分别积0-4分,总分为0-39分,得分越高提示完成事件的难度越大,患者丧失的生活能力越多^[20]。

2.3 大便性状相关量表 经过检索仅获得1个与大便性状相关的量表, Bristol粪便性状评分(Bristol stool form scale, BSFS)。该量表将粪便性状分为7种: 1分为分离的硬团; 2分为团块状; 3分为干裂的香肠便; 4分为柔软的香肠便; 5分为软的团块; 6分为泥浆状; 7分为水样便。不同的粪便性状可以反映不同的肠道传输时间,得分越低,传输时间越长;得分越高,传输时间越短。比较正常、服用番泻叶及服用洛哌丁胺3种不同状态下,排便频率、排便重量、BSFS得分与肠道传输时间的关系,结果提示三者均能反映肠道传输时间的改变,但BSFS得分改变最为敏感^[21]。

2.4 便秘相关量表的信效度和反应度 信度指的是量表的稳定性和一致性;效度代表了量表能够准确测试所需测量事物的程度,即测量结果的有效性;反应度又称为敏感性,是指若被测对象随内外环境变化时,测量结果必须对此做出反应。对于临床量表,除了对信度和效度有要求以外,反应度也是需要考虑的问题。本文所涉及的量表也进行了相关测试(表2),提示这些量表的信效度可靠,反应度灵敏,可以用于临床。

3 讨论

功能性便秘是临床上常见的功能性胃肠病,目前国际上公认的诊断标准为罗马Ⅲ标准,但是

该标准仅用于诊断,不能判定疾病的严重程度和治疗效果。因此多种与便秘相关的评分量表被用于功能性便秘的诊断和治疗之中。

从本文检索的情况看,有7个量表涉及到便秘相关症状的评价,这些量表的评价条目从3条到12条不等。罗马Ⅲ诊断标准中涉及到的便秘相关因素包括排便费力程度、大便性状、排便不尽感、直肠梗阻或阻塞感、需要用手帮助的情况及周排便次数共6个方面,而所检索到的评价量表中没有一个量表能够涵盖所有的条目。出现这一情况可能与量表设计的初衷有关,比如CAS和BFI量表最初都用于判断使用阿片类止痛药物的患者是否出现了药物所致的便秘;KESS主要用于区别不同的便秘类型;ODS得分则针对的是出口梗阻综合征的患者。其次,与量表设计者对疾病的认识态度也有关系。比如PAC-SYM中缺乏对排便频率的评价,量表设计者认为排便频率存在较大的个体差异,使用排便的绝对次数判断患者的症状轻重可能存在缺陷,因此将排便频率放在配套量表PAC-QOL的满意度这一维度中更为合适。

近年来,医学模式由传统的生物医学模式向生物-心理-社会医学模式转变,疾病疗效评价的主体也从“病”发展到“人”,更为关注患者的生存质量。本文检索到3个与便秘相关的特异性生活质量评分量表,分别从躯体功能、生理功能、满意度、担忧、日常生活习惯、社会交往能力等多个角度对患者进行了评估,可以更为全面的评估患者的整体状态和治疗的效果。和普通性的量表相比,这些量表更关注便秘直接相关维度的改变,更具有特异性和敏感性,但

表 2 便秘相关量表的信度、效度和反应度测试

名称	测试人群	测试结果
CAS	32例使用止痛药的癌症患者, 32例健康人	Cronbach's α 系数 ^a 为0.7; ICC ^b 为0.98; 可以区分便秘和非便秘人群 ($P<0.001$), 及便秘的严重程度($P<0.01$) ^[6]
CAS孕妇版	30例孕妇, 16例没有怀孕女性	Cronbach's α 系数为0.82; ICC为0.84–0.92; CVI ^c 为0.75 ^[6]
CSC	232例便秘患者	8个条目的皮尔森线性相关测试 $P<0.05$ ^[7]
KESS	71例便秘患者, 20例健康人	得分与CSC量表得分具有显著的相关性($r=0.9$)可以有效区分便秘和非便秘患者; 对疾病分型的正确预测率为55%, 其中对RED的预测准确率最高 ^[8]
PAC-SYM	216例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.89; ICC为0.75; CVI为0.68–0.72; 可以有效识别不同严重程度患者($P<0.001$), 判断治疗是否有效($P<0.001$) ^[9]
PAC-SYM 中文版	155例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.81–0.89, ICC为0.79–0.91, CVI为0.82. 量表总分和各维度得分与SF-36、PAC-QOL、SAS/SDS得分相关($P<0.01$), 得分可以反映治疗效果($P<0.01$) ^[10]
ODS Score	76例ODS患者, 30例健康人	Cronbach's α 系数为0.513, ICC为0.89, 可以区别健康人和患者 ($P<0.001$) ^[11]
BFI	985例肠易激综合征患者	Cronbach's α 系数 >0.7 , 每个条目得分和总分均与排便频率具有相关性 ^[12]
华人便秘问卷	111例便秘患者, 110例健康人	Cronbach's α 系数为0.792, ICC为0.7; 得分与SF-36中除精力以外的7个维度的得分具有相关性; 得分可以反映治疗效果 ^[15]
PAC-QOL	260例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.8; ICC为0.7(满意维度为0.66); 得分与腹痛程度 ($P<0.001$)和便秘严重程度($P<0.05$)呈显著相关; 经过治疗后, 量表总分效应量为1.77 ^[16]
PAC-QOL 中文版	152例便秘患者	Cronbach's α 系数为0.69–0.93, ICC为0.68–0.89, CVI为0.84; 得分与SF-36具有相关性($r=0.56$); 经治疗后患者各维度及总分均下降 ^[17]
PAC-QOL 中文版	283例便秘患者, 90例健康人	各领域及总分Cronbach's α 系数为0.7(生理维度=0.69), 能够反映便秘患者和正常人的差异($P<0.01$), 也可反映治疗前后的差异($P<0.01$) ^[18]
CRQOL	240例便秘患者, 103例健康人	Cronbach's α 系数为0.89, ICC为0.87, 可以区别便秘患者和健康人 ($P<0.001$); 得分与IBS生活质量评分和SF-36评分相关($P<0.001$), 与社会期望量表无关 ^[19]
CRDS	240例便秘患者, 103例健康人	Cronbach's α 系数 >0.87 , ICC >0.85 ; 能够区别便秘患者和健康人($P<0.001$). 得分与SF-36的得分呈现负相关关系($P<0.001$), 而与埃普沃斯嗜睡量表和社会期望量表无明显相关性 ^[20]

^aCronbach's系数, 信度系数; ^bICC, 组内相关系数; ^cCVI, 内容效度指数。

三者在使用上也有所不同。PAC-QOL多和PAC-SYM配合使用, 两者在条目上具有互补性, 同时评价患者的症状和生活质量。CRQOL和CRDS是一个团队开发的两个量表, 其中CRQOL侧重于便秘对患者整个生活方式的影响, 而CRDS则倾向于评价患者所丧失的日常生活能力。

本文所检索的量表均进行了相关的信度、效度和反应度的检测, 以确保其临床使用的有效性, 但是值得注意的是某些量表其设计初衷并不是用于功能性便秘, 在针对功能性便秘患者使用时, 应该进行信效度的测试。其次, 除了华人便秘问卷, 其他的问卷均为非中文原版的量表, 对于非中文量表的翻译过程中应当注意文化调适, 避免因文化差异所引起的歧义, 确保汉化版本和原版的一致性, 并重新测量信效度。遗憾的是, 目前除了PAC-SYM和PAC-QOL引进了中文版本并重新进行了信效度的检测, 尚未

见到其他量表中文版的信效度测试。

作为临床量表, 还需要考虑到其评价回顾的时间段和使用的方便性。本文检索的文献中有的明确指出了对过去某一段时间内的情况进行评估, 有的则未能明确说明, 作者根据其量表条目的设定和量表的产生过程得出了每个量表回顾的时间段, 以供后续研究者参考。当量表在使用的时候, 希望可以快速有效的判定患者的状况, 因此完成量表所需的时间也是量表实用性的一个方面, 但是目前只有3个量表给出了大致所需的时间, 其他量表没有见到相关报道。从获得量表的难易程度来看, 除了PAC-SYM和PAC-QOL需要授权才能获得量表的完整版本, 其他量表均可从相关的文献中直接获得。

总之, 目前已经有研究者设计出了针对便秘的特异性的症状评分量表和生活质量量表, 但每个量表的目的有所不同, 本文简述了每个量

应用要点

本文分析了目前临床常用的便秘症状和生活质量评价量表的特征, 为不同类型的便秘患者, 不同目的研究者, 选用何种量表提供了较为详实的参考资料。

同行评价

本文设计科学合理,文献较全面,数据可靠,分析得当,结论客观,对临床具有一定有指导意义。

表的特点,以期后续研究者选择合适的量表提供参考。值得提醒的是由于量表设计初衷和文化背景的不同,在必要时需要进行信度、效度和反应度的测试,以确保适用于不同人群。

参考文献

- Stein P, Weber M, Prüfer S, Schmid B, Schmitt E, Probst HC, Waisman A, Langguth P, Schild H, Rad-sak MP. Regulatory T cells and IL-10 independently counterregulate cytotoxic T lymphocyte responses induced by transcutaneous immunization. *PLoS One* 2011; 6: e27911 [PMID: 22114725]
- Bongers ME, Benninga MA, Maurice-Stam H, Grootenhuis MA. Health-related quality of life in young adults with symptoms of constipation continuing from childhood into adulthood. *Health Qual Life Outcomes* 2009; 7: 20 [PMID: 19254365 DOI: 10.1186/1477-7525-7-20]
- Koloski NA, Jones M, Wai R, Gill RS, Byles J, Talley NJ. Impact of persistent constipation on health-related quality of life and mortality in older community-dwelling women. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1152-1158 [PMID: 23670115 DOI: 10.1038/ajg.2013.137]
- 陈諒, 宋佳, 刘文. 北京中医医院消化中心对慢性便秘患者生存质量的调查报告. *中国中西医结合消化杂志* 2009; 17: 322-325
- McMillan SC, Williams FA. Validity and reliability of the Constipation Assessment Scale. *Cancer Nurs* 1989; 12: 183-188 [PMID: 2743302 DOI: 10.1097/00002820-198906000-00012]
- Broussard BS. The constipation assessment scale for pregnancy. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 1998; 27: 297-301 [PMID: 9620822 DOI: 10.1111/j.1552-6909.1998.tb02652.x]
- Agachan F, Chen T, Pfeifer J, Reissman P, Wexner SD. A constipation scoring system to simplify evaluation and management of constipated patients. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 681-685 [PMID: 8646957 DOI: 10.1007/BF02056950]
- Knowles CH, Eccersley AJ, Scott SM, Walker SM, Reeves B, Lunniss PJ. Linear discriminant analysis of symptoms in patients with chronic constipation: validation of a new scoring system (KES). *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1419-1426 [PMID: 11052520 DOI: 10.1007/BF02236639]
- Frank L, Kleinman L, Farup C, Taylor L, Miner P. Psychometric validation of a constipation symptom assessment questionnaire. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 870-877 [PMID: 10522604 DOI: 10.1080/003655299750025327]
- 宋玉磊, 林征, 林琳, 王美峰. 中文版便秘患者症状自评量表的信度与效度研究. *护理学杂志* 2012; 27: 73-76
- Altomare DF, Spazzafumo L, Rinaldi M, Dodi G, Ghiselli R, Piloni V. Set-up and statistical validation of a new scoring system for obstructed defaecation syndrome. *Colorectal Dis* 2008; 10: 84-88 [PMID: 17441968 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2007.01262.x]
- Rentz AM, Yu R, Müller-Lissner S, Leyendecker P. Validation of the Bowel Function Index to detect clinically meaningful changes in opioid-induced constipation. *J Med Econ* 2009; 12: 371-383 [PMID: 19912069 DOI: 10.3111/13696990903430481]
- Ueberall MA, Müller-Lissner S, Buschmann-Kramm C, Bosse B. The Bowel Function Index for evaluating constipation in pain patients: definition of a reference range for a non-constipated population of pain patients. *J Int Med Res* 2011; 39: 41-50 [PMID: 21672306 DOI: 10.1177/147323001103900106]
- Rentz AM, van Hanswijck de Jonge P, Leyendecker P, Hopp M. Observational, nonintervention, multicenter study for validation of the Bowel Function Index for constipation in European countries. *Curr Med Res Opin* 2011; 27: 35-44 [PMID: 21083515 DOI: 10.1185/00307995.2010.535270]
- Chan AO, Lam KF, Hui WM, Hu WH, Li J, Lai KC, Chan CK, Yuen MF, Lam SK, Wong BC. Validated questionnaire on diagnosis and symptom severity for functional constipation in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 483-488 [PMID: 16128687 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02621.x]
- Marquis P, De La Loge C, Dubois D, McDermott A, Chassany O. Development and validation of the Patient Assessment of Constipation Quality of Life questionnaire. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 540-551 [PMID: 16036506 DOI: 10.1080/00365520510012208]
- 赵贞贞, 林征, 王美峰, 张红杰, 王燕. 中文版患者便秘状况评估量表在应用评价中的信效度研究. *中华护理杂志* 2010; 45: 1124-1126
- 金洵, 丁义江, 丁曙晴, 江滨, 张华, 黄新, 王丽雯, 王静. 便秘患者生存质量自评量表PAC-QOL中文版的信度、效度和反应度. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 209-213
- Wang JY, Hart SL, Lee J, Berian JR, McCrea GL, Varma MG. A valid and reliable measure of constipation-related quality of life. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 1434-1442 [PMID: 19617757 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181a51196]
- Hart SL, Albani JJ, Crangle CJ, Torbit LA, Varma MG. Development and assessment of the constipation-related disability scale. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 183-192 [PMID: 22093056 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04910.x]
- Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 920-924 [PMID: 9299672 DOI: 10.3109/00365529709011203]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



腹腔淋巴管瘤临床分析18例

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪, 南昌大学第一附属医院普外科 江西省南昌市 330006
李健, 硕士, 住院医师, 主要从事普外科疾病的基础及临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No.30901429
作者贡献分布: 此课题由李健与李正荣设计; 研究过程由武彪与李正荣指导; 李健、李正荣、李映良、刘正人、涂发妹及武彪完成; 数据分析与论文写作由李健与李正荣完成.
通讯作者: 武彪, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院普外科.
cdyfyrk@126.com
电话: 0791-88692573
收稿日期: 2013-06-05 修回日期: 2013-07-26
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-08

Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases

Jian Li, Zheng-Rong Li, Ying-Liang Li, Zheng-Ren Liu, Fa-Mei Tu, Biao Wu

Jian Li, Zheng-Rong Li, Ying-Liang Li, Zheng-Ren Liu, Fa-Mei Tu, Biao Wu, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901429
Correspondence to: Biao Wu, Professor, Chief Physician, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. cdyfyrk@126.com
Received: 2013-06-05 Revised: 2013-07-26
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical manifestations, imaging features, diagnosis and treatment of abdominal lymphangioma.

METHODS: Clinical data for 18 patients with abdominal lymphangioma who received treatment at our hospital from January 2008 to December 2012 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Most of the tumors had clear boundaries and were round, oval or lobulated. All patients with tumors ranging from 7 to 19 cm underwent operation. Pathological analysis showed that the tumor was composed of irregular and expanded lymphatic vessels. Postoperative recovery was good in all patients, and no recurrence occurred.

CONCLUSION: Abdominal lymphangioma is a rare clinical abdominal disease, whose diagnosis relies on preoperative comprehensive physical and imaging examinations. The prognosis for abdominal lymphangioma treated by surgery is good.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Abdominal lymphangioma; Treatment

Li J, Li ZR, Li YL, Liu ZR, Tu FM, Wu B. Abdominal lymphangioma: An analysis of 18 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2617-2619 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2617.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2617>

摘要

目的: 初步探讨腹腔淋巴管瘤的临床表现、影像学特点及诊断治疗方法。

方法: 回顾分析我院2008-01/2012-12收治的18例腹腔淋巴管瘤患者的临床资料。

结果: 腹腔淋巴管瘤形状多规则, 界限大多清晰, 成圆形、椭圆形或分叶状, 直径7-19 cm不等。18例患者均行手术治疗, 病理检查示肿瘤由形态不规则的、扩张的淋巴管构成, 术后恢复良好, 均无复发。

结论: 腹腔淋巴管瘤是临床少见的腹腔疾病, 术前需借助体检、影像学检查综合分析, 手术治疗预后较好。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 腹腔淋巴管瘤; 治疗

核心提示: 回顾分析18例腹腔淋巴管瘤患者的临床资料, 初步探讨腹腔淋巴管瘤的临床表现、影像学特点及诊断治疗方法。及时正确行手术治疗, 取得了良好的疗效。

李健, 李正荣, 李映良, 刘正人, 涂发妹, 武彪. 腹腔淋巴管瘤临床分析18例. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2617-2619
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2617.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2617>

■背景资料

淋巴管瘤是淋巴源性良性病变, 可发生在任何包含有淋巴组织的部位, 但腹腔淋巴管瘤是非常少见腹部良性肿瘤。研究腹腔淋巴管瘤的发病情况、临床及影像学特点及诊断治疗方法, 对于临床治疗腹腔淋巴管瘤具有重要意义。

■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■研发前沿

临床上及时诊断腹腔淋巴瘤,对疗效及安全性进行全面评价,及时行手术治疗,术后进行长期随访,使患者最大范围内受益,是目前研究的重点及热点。

0 引言

淋巴瘤是淋巴源性良性病变,可发生在任何包含淋巴组织的部位,但腹腔淋巴瘤是非常少见腹部良性肿瘤。我院普外科2008-01/2012-12共收治18例腹腔淋巴瘤,均经手术和病理证实,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组18例患者中,男性11例,女性7例,男性:女性为1.57:1,年龄28-73岁,中位年龄为47.5岁。其中肠后腹膜淋巴瘤7例(38.9%),系膜淋巴瘤5例(27.8%),小肠淋巴瘤4例(22.2%),结、直肠淋巴瘤2例(11.1%)。

1.2 方法 影像学检查方法及检查结果:所有病例均行腹部CT平扫检查,部分病例行腹部超声、核磁共振成像或消化内镜检查,大多数影像学检查表现为:腹部囊肿形状多规则,成圆形、椭圆形或分叶状,直径7-19 cm不等,单房囊肿或多房囊肿,形态多规则,界限大多清晰,部分病例肿块压迫临近组织如肾脏、胃壁、脾门等。

2 结果

2.1 临床表现 本组病例中,单纯腹痛3例(16.7%),单纯腹胀2例(11.1%),单纯腹腔内包块5例(27.8%),腹腔包块+腹痛2例(11.1%),腹痛+腹胀5例(27.8%),而体检发现者1例(5.5%)。病程4 d-7年不等。

2.2 治疗效果 所有病例均行手术治疗,予单纯腹腔肿块切除或连同部分或全部周围组织切除,同时做病理检查予以确诊,病理检查示肿瘤由形态不规则的、扩张的淋巴管构成。所有患者术后恢复良好,随访至今均未发现复发,疗效满意。

3 讨论

淋巴瘤系淋巴管源性罕见的良性病变,并非真性肿瘤,按Harkine法^[1]分为5型:(1)单纯性淋巴瘤;(2)海绵状淋巴瘤;(3)囊性淋巴瘤;(4)淋巴管血管瘤;(5)淋巴管肉瘤。其中以囊性淋巴瘤多见。95%的淋巴瘤发生于颈部和腋窝,5%可发生于纵隔、脾、骨等器官,腹腔淋巴瘤临床较少见^[2-4]。腹腔淋巴瘤以囊性多见,又称为乳糜囊肿或乳糜管瘤,其病理改变是一种衬以内皮细胞的多个腔体所构成的异常淋巴积液^[5,6]。其病因至今仍未取得一致性意见。Colovic等^[7]学者依据淋巴管系统的发展过程认为由于淋巴管系统胚胎组织缺陷,淋巴管发育

不全、错构致淋巴管增生,在逐渐积聚淋巴液的压力影响下致淋巴管扩展而形成。Rieker等、Ryu等及Ozdemir等^[8-10]学者基于临床病例观察总结其病因可能与继发性感染有关,推断既往手术、外伤、放射治疗等损伤致淋巴管损伤造成淋巴引流受阻。淋巴瘤的生长具有侵袭性^[11,12],能侵犯周围肠管及实质性脏器,进而造成邻近组织推压移位,影响正常生理功能。早期可无症状,大部分是受累部位症状而发现,临床症状无特异性,如腹部不适、腹痛、腹胀、腹泻或便秘,或仅表现为腹围增加,部分患者可并发感染及出血,引起急腹症表现^[13-15]。

淋巴瘤的影像学检查方法主要为超声、CT等,影像学检查^[16-18]可初步判定肿瘤性质和来源,了解病变大小、范围及与周围组织关系,对诊断有一定的特异性,结合超声及CT检查有助于提高诊断的准确性,以利于手术方式的确定。淋巴瘤超声多表现为边界光滑的单个或多个囊性包块,多伴有强回声厚壁分隔光带,肿块呈均匀无回声液性暗区伴后方增强回声。淋巴瘤CT多表现为单房或多房弥漫性分布,形态不规则,沿疏松结缔组织间隙生长形成跨区浸润是淋巴瘤的特点。CT由于能提供其解剖位置、相互毗邻关系、病灶大小及内容物及CT值等更多有价值的信息,因此对其诊断和鉴别诊断具有重要意义,应与一些腹部囊性疾病如胰腺假性囊肿、胰腺源性囊性瘤、肿卵巢源性囊性肿瘤等相鉴别,但腹部淋巴瘤的确诊仍需病理组织学检查。

腹腔淋巴瘤尽管是良性病变,但其具有侵袭性,随进展会侵犯周围组织引起周围组织萎缩和功能异常。由于放射治疗等其他治疗方法效果欠佳,但至今仍以手术切除为首选治疗方案,手术的难点在于必须完全切除囊肿壁,否则容易复发。我们的经验是应根据肿瘤大小、侵犯周围情况,切除的难度和操作的危险性来决定手术方式,对于感染病例,应先控制感染后再行手术治疗。根据淋巴瘤浸润性生长的特性,在术中尽可能一次完整切除瘤体。若肿瘤体积不大或与周围脏器无粘连者,可行单纯性肿瘤完整切除,若肿瘤与肠管粘连明显不易完整切除者,则在切除肿瘤同时应切除受累肠管,若肿瘤同时累及周围脏器者,必要时连同受累脏器部分或全部切除必要时部分或全部切除受累脏器,同时结扎周围的淋巴管道,防止淋巴管漏和肿瘤复发。术中应细心操作,以防瘤体破裂,应

■相关报道

施伟斌、全志伟、王雪峰等学者对腹腔淋巴瘤的诊断及治疗等方面进行报道总结了一系列的治疗经验及体会,取得了很好的治疗疗效。

仔细检查网膜、胃结肠韧带、肝胃韧带、及肠系膜, 以免遗漏多发的小囊肿。本组所有患者均采用手术治疗, 术后恢复良好, 随访至今均无复发, 疗效满意。

4 参考文献

- 1 Leung TK, Lee CM, Shen LK, Chen YY. Differential diagnosis of cystic lymphangioma of the pancreas based on imaging features. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 512-517 [PMID: 16801041]
- 2 Abid M, Loukil I, Feriani N, Mzali R, Khabir A, Frikha MF, Beyrouthi MI. [Cystic lymphangioma of the pancreas: an exceptional location]. *Arch Pediatr* 2010; 17: 1546-1549 [PMID: 20943353 DOI: 10.1016/j.arcped.2010.08.017]
- 3 Kasza J, Brody FJ, Khambaty F, Vaziri K, Wallace B. Laparoscopic resection of a retroperitoneal cystic lymphangioma in an adult. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2010; 20: e114-e116 [PMID: 20551789 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3181db79a7]
- 4 施伟斌, 全志伟, 王雪峰. 腹腔脏器淋巴管瘤的诊断和治疗20例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 437-439
- 5 郭学军, 刘鹏程, 王成林, 赵艳, 冯飞, 赵洋. 淋巴管瘤的影像学诊断与病理相关性分析. *临床放射学杂志* 2006; 40: 523-525
- 6 段刚, 许乙凯, 戴琳. 淋巴管瘤的影像学及病理学对照研究. *广东医学* 2007; 28: 449-450
- 7 Colovic RB, Grubor NM, Micev MT, Atkinson HD, Rankovic VI, Jagodic MM. Cystic lymphangioma of the pancreas. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6873-6875 [PMID: 19058318]
- 8 Rieker RJ, Quentmeier A, Weiss C, Kretschmar U, Amann K, Mechttersheimer G, Bläker H, Herwart OF. Cystic lymphangioma of the small-bowel mesentery: case report and a review of the literature. *Pathol Oncol Res* 2000; 6: 146-148 [PMID: 10936792]
- 9 Ryu WS, Kwak JM, Seo UH, Kim SH, Park SS, Kim CS, Lee CH, Mok YJ. Laparoscopic treatment of a huge cystic lymphangioma: partial aspiration technique with a spinal needle. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2008; 18: 603-605 [PMID: 18721013 DOI: 10.1089/lap.2007.0145]
- 10 Ozdemir H, Kocakoc E, Bozgeyik Z, Cobanoglu B. Recurrent retroperitoneal cystic lymphangioma. *Yonsei Med J* 2005; 46: 715-718 [PMID: 16259073]
- 11 Detry B, Bruyère F, Erpicum C, Paupert J, Lamaye F, Maillard C, Lenoir B, Foidart JM, Thiry M, Noël A. Digging deeper into lymphatic vessel formation in vitro and in vivo. *BMC Cell Biol* 2011; 12: 29 [PMID: 21702933 DOI: 10.1186/1471-2121-12-29]
- 12 Kwag E, Shim SS, Kim Y, Chang JH, Kim KC. CT features of generalized lymphangiomatosis in adult patients. *Clin Imaging* 2013; 37: 723-727 [PMID: 23391872 DOI: 10.1016/j.clinimag.2012.12.003]
- 13 Goh BK, Tan YM, Ong HS, Chui CH, Ooi LL, Chow PK, Tan CE, Wong WK. Intra-abdominal and retroperitoneal lymphangiomas in pediatric and adult patients. *World J Surg* 2005; 29: 837-840 [PMID: 15951926]
- 14 Erdem S, Iskender C, Avsar AF, Altundag OB, Ustunyurt E. Benign cystic lymphangioma presenting as a pelvic mass. *J Obstet Gynaecol Res* 2006; 32: 628-630 [PMID: 17100830]
- 15 李建军, 郭怀虎, 刘小平, 陈凛, 李荣. 腹部淋巴管瘤的诊断和治疗. *临床肿瘤学杂志* 2003; 8: 427-430
- 16 毕纯龙, 潘鑫, 万霞, 张蔚, 杨立国. 淋巴管瘤的CT诊断. *放射学实践* 2008; 23: 157-160
- 17 杨冠英, 陈王坚, 黎家强. 10例淋巴管瘤的CT诊断及鉴别诊断. *广东医学院学报* 2011; 29: 270-272
- 18 何勇, 梁锐, 高振明, 王立明. 腹膜后囊性淋巴管瘤的CT诊断及治疗(附5例报道). *中国普外基础与临床杂志* 2010; 17: 1304-1305

■创新盘点

及时正确诊断腹腔淋巴管瘤, 正确的手术治疗及随访, 使患者最大范围内受益。

■同行评价

本文回顾性总结分析18例腹腔淋巴管瘤的临床资料, 讨论充实, 对临床有一定的指导意义和临床参考价值。

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰

■背景资料

手足口病(hand foot and mouth disease, HFMD)是由多种肠道病毒(多见肠道病毒71型, EV71)引起的常见传染性疾病, 以婴幼儿多见, 其发病涉及小儿营养、免疫等内部因素及病原微生物、环境等外部因素, 二者相互作用决定了病情的发生, 而机体免疫功能的高低又在病情的发展中具有重要作用; 锌与体内200多种酶的活性有关直接参与核酸和蛋白质的合成。锌缺乏可导致细胞免疫和体液免疫功能低下。而红细胞锌浓度的测定干扰因素少, 结果可靠, 在反映人体锌的营养状态时比血浆锌浓度更适合。

■同行评议者

吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰, 孝感市中心医院 湖北省孝感市 432000

刘自刚, 副主任技师, 主要从事临床生化的检验及质量控制的研究。

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDB324

作者贡献分布: 刘自刚负责检验项目检测、数据整理、资料完善及项目主持; 李海波负责临床对象的收集和临床症状的查访; 王少敏为项目负责人和联络者, 项目开展的指导者和组织者; 徐凤兰负责检验项目检测和数据收集。

通讯作者: 王少敏, 主任技师, 432000, 湖北省孝感市广场路6号, 孝感市中心医院。wsm2320@sina.com

收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children

Zi-Gang Liu, Hai-Bo Li, Shao-Min Wang, Feng-Lan Xu

Zi-Gang Liu, Hai-Bo Li, Shao-Min Wang, Feng-Lan Xu, Central Hospital of Xiaogan, Xiaogan 432000, Hubei Province, China

Supported by: the Hubei Provincial Natural Science Foundation, No. 2011 CDB324

Correspondence to: Shao-Min Wang, Chief Technician, Central Hospital of Xiaogan, 6 Guangchang Road, Xiaogan 432000, Hubei Province, China. wsm2320@sina.com

Received: 2013-06-24 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

AIM: To explore the correlation between active enterovirus type 71 (EV71) infection and erythrocyte zinc concentration in children.

METHODS: Three hundred and ninety-two children who had hand foot and mouth disease were included in this study. Twenty normal children were used as controls. EV71-IgM was detected in the children using the gold standard method. Erythrocyte zinc concentration was measured using flame atomic absorption spectrometry. The correlation between active EV71 infection and erythrocyte zinc concentration was then analyzed.

RESULTS: The erythrocyte zinc concentration was significantly lower in the EV71-IgM(+)

group than in the EV71-IgM(-) group ($83.7 \mu\text{mol/L} \pm 30.1 \mu\text{mol/L}$ vs $100.6 \mu\text{mol/L} \pm 40.2 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$). The negative conversion of EV71-IgM (+) was positively correlated with erythrocyte zinc concentration ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Erythrocyte zinc concentration has a significant effect on susceptibility to and treatment of active EV71 infection in children.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: EV71; Active infection; Erythrocyte zinc concentration

Liu ZG, Li HB, Wang SM, Xu FL. Correlation between active enterovirus type 71 infection and erythrocyte zinc concentration in children. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(25): 2620-2622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2620.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i25.2620>

摘要

目的: 探讨儿童肠道病毒71型(enterovirus type 71, EV71)活动性感染与患儿红细胞锌浓度的关系。

方法: 用金标法筛查儿童感染EV71-IgM阳性率, 并用火焰原子吸收光谱法对患儿红细胞锌浓度进行测定, 并对实验数据进行相应的统计分析。

结果: EV71-IgM(+)组红细胞锌($83.7 \mu\text{mol/L} \pm 30.1 \mu\text{mol/L}$)低于EV71-IgM(-)组($100.6 \mu\text{mol/L} \pm 40.2 \mu\text{mol/L}$)($P < 0.05$), EV71-IgM(+)治愈率与红细胞锌浓度值呈正相关($P < 0.05$), 均有显著差异。

结论: 人体红细胞锌水平对EV71病毒活动性感染儿童的发病和疗效均有显著影响。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠道病毒71型; 活动性感染; 红细胞锌

核心提示: 肠道病毒71型(EV71)是引起手足口病

(hand foot and mouth disease, HFMD)最常见的病毒之一, 临床表现差异很大, 严重影响儿童健康. 锌是机体必需的微量元素之一, 参与机体核酸、蛋白质和多种酶的合成, 能量代谢和氧化还原等过程. 锌在免疫系统的形成、稳定调节及维持机体正常免疫功能方面有重要作用, 锌的缺乏导致机体免疫力低下, 是引起儿童易患感染性疾病的主要原因之一. 本文提示, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)患儿, EV71-IgM(+) HFMD患儿红细胞锌浓度偏低者治疗效果差.

刘自刚, 李海波, 王少敏, 徐凤兰. 儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2620-2622 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2620.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2620>

0 引言

肠道病毒71型(enterovirus type 71, EV71)是引起手足口病(hand foot and mouth disease, HFMD)最常见的病毒之一, 临床表现差异很大, 严重影响儿童健康. 锌是机体必需的微量元素之一, 参与机体核酸、蛋白质和多种酶的合成, 能量代谢和氧化还原等过程. 锌在免疫系统的形成、稳定调节及维持机体正常免疫功能方面有重要作用, 锌的缺乏导致机体免疫力低下, 是引起儿童易患感染性疾病的主要原因之一. 本文通过对我院在2010-03/2011-08诊治的392例HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌检测结果的分析, 探讨儿童肠道病毒71型活动性感染与红细胞锌浓度关系.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-03/2011-08我院门诊及住院HFMD患儿, 共392例, 男241例, 女151例, 年龄1-3岁, 平均年龄 1.92 ± 0.81 岁, 正常对照组(正常组)20例, 为同一时期来我院健康体检儿童, 其中男12例, 女8例, 年龄1-3岁, 平均年龄 1.91 ± 0.73 岁, 近期内无病毒感染史. 所有男女患者一般资料对比无统计学差异($P>0.05$).

1.2 方法 手足口病患儿及正常对照组儿童均清晨空腹抽2 mL静脉血注入肝素管中送检. 4 h内检测完成, EV71-IgM检测方法为金标法, 检测试剂由北京万泰生物药业股份有限公司提供, 严格按照说明书进行操作. 用原子吸收分光光度法检测红细胞锌浓度, 取肝素抗凝全血约1 mL,

表 1 392例HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度检测结果 (n , mean \pm SD)

分组	n	红细胞锌($\mu\text{mol/L}$)
EV71-IgM(+)	115	83.7 ± 30.1
EV71-IgM(-)	277	100.6 ± 40.2^a
正常对照组	20	100.9 ± 31.3^a

^a $P>0.05$ vs EV71-IgM(+). HFMD: 手足口病.

在低速离心机上4000 r/min(相对离心力3648 g)离心10 min, 用微量进样器小心的取下层红细胞40 μL , 加入到样本处理液1.2 mL中, 混匀, 按原子吸收光谱仪的操作说明上机测定, 对照标准曲线, 取得红细胞锌浓度的结果, 检测试剂和仪器均由北京博晖创新公司提供.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行分析, 计量资料采用mean \pm SD表示, 统计学方法分别采用 t 检验和 χ^2 检验. 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 392例HFMD患儿EV71-IgM阳性率及男女比例 EV71-IgM(+)为115例, 占总数的29.3%, 其中男性患儿74例, 占男性总数的30.7%, 女性患儿41例, 占女性总数的27.2%.

2.2 392例HFMD患儿EV71-IgM及红细胞锌浓度比较 EV71-IgM(+)组的HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)组和正常对照组, 经统计学分析, 均有显著性差异($P<0.05$). EV71-IgM(-)患儿红细胞锌浓度和正常对照组比较相差不大, 统计学分析, 结果无显著性差异($P>0.05$, 表1).

2.3 红细胞锌浓度对EV71-IgM(+)治疗后转阴的影响 将115例EV71-IgM(+)的HFMD患儿, 按红细胞锌浓度的均值分为两组, 治疗后观察EV71-IgM转阴情况(表2). 红细胞锌浓度低于83.7 $\mu\text{mol/L}$ 组治疗后EV71-IgM(+)转阴率低于红细胞锌浓度高于83.7 $\mu\text{mol/L}$ 组, 经统计学分析, 两组之间有显著性差异($P<0.05$).

3 讨论

锌是人体内多种酶的组成部分, 在细胞生物学中发挥着重要的作用, 他直接参与了核酸、蛋白质的合成、细胞的分化和增殖以及许多重要的代谢, 是人体生长发育、生殖遗传、免疫、内分泌等重要生理过程中必不可少的物质^[1], 人

■研发前沿

对手足口病所涉及的病原微生物研究较多, 临床上对手足口病患儿的治疗和护理也非常重视, 但对患儿的营养状态和微量元素的研究还有待深入.

■创新盘点

我们采取测定红细胞锌浓度方法, 可减少外界因素的影响, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度降低与病毒感染有一定的关系, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度的高低与病情的发展有一定关系.

■应用要点

建立对HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度的检测,可以反映HFMD患儿EV71活动性感染的发生发展及转归情况,因此可以作为HFMD患儿的临床治疗及提高疗效的新考量指标。

表 2 红细胞锌浓度对EV71-IgM(+)治疗后转阴的影响 (n)

分组(μmol/L)	治疗后阳性	治疗后阴性	治疗前阳性
<83.7	32 ^a	29	61
>83.7	17	37	54

^aP<0.05 vs >83.7 μmol/L治疗后阳性。

体含锌总量减少时,会引起免疫组织受损以及免疫功能缺陷^[2,3]。血液中80%以上的血锌在细胞内,主要在红细胞内,白细胞在血液中更替快,含锌量比红细胞多25倍,理论上对体内微量元素的变化更为敏感,但白细胞分离手续较繁^[4]。头发是容易取得的组织,发锌在一定程度上可反映一个人的锌营养状态,但毛发蛋白质结构可吸收和贮存来自自来水、洗发膏、环境灰等所含的锌,测定易受外来因素影响^[5,6]。因此我们采取测定红细胞锌浓度方法,经过离心后采集红细胞样本,可减少外界因素的影响。

本实验表明, EV71-IgM(+)HFMD患儿红细胞锌浓度明显低于EV71-IgM(-)患儿,一定范围内锌水平的降低,其机制可能与锌参与各种蛋白的合成、促进病变细胞凋亡、保护细胞抵御病毒的侵袭有关^[7,8], Glaser等^[9]发现给予锌螯合剂可抑制病毒的复制,可明显地保护细胞抵御病毒的侵袭;国内也有学者发现,轮状病毒肠炎患儿血锌明显低于正常儿童血锌水平,在常规治疗的基础上佐以补锌对于提高RV肠炎的疗效有良好的作用^[10,11]。

本实验还发现,随着红细胞锌浓度的降低, EV71-IgM(+)的HFMD患儿治疗转阴率也明显降低,说明红细胞锌浓度与EV71-IgM(+)的HFMD患儿治疗转阴率呈正相关,这提示体内锌水平对EV71感染的治疗方面有重要作用,可能与缺锌导致机体免疫功能下降有关。有资料显示,锌缺乏时,可使Cu/Zn-SOD的活性降低,组织抗氧化能力降低, Cu/Zn-SOD作为核修复酶的必须成分,可减轻自由基对DNA的损伤,当体内锌水平下降后, Cu/Zn过氧化物歧化酶活性下降,细胞受损伤后不易修复,自由基生成增多,从而促进淋巴细胞损伤^[12,13]。红细胞内富含锌,研究

发现, 锌与红细胞免疫功能有较大的关系。红细胞的免疫功能是清除循环免疫复合物, 促进和增强吞噬作用, 识别和储存抗原及递呈抗原, 增强T细胞免疫依赖性反应, 锌缺乏可导致红细胞免疫粘附功能降低, 从而导致机体免疫能力下降。除了特异性的体液免疫和细胞免疫外, 锌还对非特异性免疫系统也有着重要的调控作用^[14,15]。

总之, 通过建立对HFMD患儿EV71-IgM和红细胞锌浓度的检测, 可以反映HFMD患儿EV71活动性感染的发生发展及转归情况, 因此可以作为HFMD患儿的临床治疗及提高疗效的新的考量指标。

4 参考文献

- Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 2000; 130: 1447S-1454S [PMID: 10801958]
- 罗治彬, 吴嘉惠, 徐采朴. 中毒剂量锌对大鼠小肠粘膜抗体产生的影响. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 363-364
- 张萍, 张奕奕. 儿童血锌钙铁水平及其与儿童疾病和健康的关系. *中国全科医学* 2010; 13: 3096-3098
- 陈善昌, 胡静云, 陈栋, 彭小媚. 肝炎后肝硬化患者血清、红细胞和白细胞的锌、铜、铁含量变化及其临床观察. *国际检验医学杂志* 2011; 32: 1910-1910
- 刘立忠. 浅谈儿童发锌检测结果分析. *中国现代药物应用* 2010; 4: 54-55
- 黄弋石, 季莘, 李春建, 丁亦清. 南通市1118例患儿发锌、铅含量与分析. *广东微量元素科学* 2010; 17: 9-11
- Hambidge KM. Zinc and pneumonia. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 991-992 [PMID: 16685039]
- 钟喜标. 影响小儿反复呼吸道感染危险因素研究. *国际医药卫生导报* 2012; 18: 3290-3292
- Glaser W, Triendl A, Skern T. The processing of eIF4GI by human rhinovirus type 2 2A(pro): relationship to self-cleavage and role of zinc. *J Virol* 2003; 77: 5021-5025 [PMID: 12663811]
- 康春华, 叶毅桦, 赵伟. 小儿轮状病毒肠炎血锌水平变化及补锌治疗. *昆明医学院学报* 2010; 31: 109-113
- 刘俊峰, 高峰, 王东颖, 黄军华, 任瑞峰. 轮状病毒肠炎儿童血锌水平变化及其与体液免疫的相关性研究. *中国医药导报* 2012; 09: 142-43
- Kondoh M, Kamada K, Kuronaga M, Higashimoto M, Takiguchi M, Watanabe Y, Sato M. Antioxidant property of metallothionein in fasted mice. *Toxicol Lett* 2003; 143: 301-306 [PMID: 12849690]
- 王育强, 任仲轩. 慢性病毒性肝炎患者红细胞C3b受体活性与血锌含量的关系. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 95-95
- 韩军花, 杨月欣, 何梅. 锌对红细胞膜ATP酶活性影响的研究. *卫生研究* 2001; 30: 47-49
- King LE, Fraker PJ. Zinc deficiency in mice alters myelopoiesis and hematopoiesis. *J Nutr* 2002; 132: 3301-3307 [PMID: 12421843]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



■同行评价

本文设计合理, 资料完整, 图表清晰, 创新性较好, 有一定指导意义。

肝糖原累积病1例

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省肝病中心 云南省昆明市 650101

左丽丽, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由左丽丽完成; 吴华美、杨黎宏、唐映梅及杨晋辉审核。

通讯作者: 杨晋辉, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路112号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科, 云南省肝病中心。zll_2011321@163.com

电话: 0871-65351281-2288

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-06

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-08

Hepatic glycogen storage disease: A case report

Li-Li Zuo, Hua-Mei Wu, Li-Hong Yang, Ying-Mei Tang, Jin-Hui Yang

Li-Li Zuo, Hua-Mei Wu, Li-Hong Yang, Ying-Mei Tang, Jin-Hui Yang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jin-Hui Yang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 112 Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. zll_2011321@163.com

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-06

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-08

Abstract

A 14-year-old male patient was admitted due to recurrent epistaxis for twelve years and growth retardation for more than five years. Physical examination revealed that he had hepatosplenomegaly, mild liver function abnormalities and fasting hypoglycemia. He was diagnosed with hepatic glycogen storage disease by a liver biopsy. Glycogen storage disease is a rare clinical entity whose prognosis greatly relies on early diagnosis and reasonable treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Glycogen storage disease; Hepatomegaly; Diagnosis; Treatment

Zuo LL, Wu HM, Yang LH, Tang YM, Yang JH. Hepatic glycogen storage disease: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(25): 2623-2626 URL: http://

www.wjgnet.com/1009-3079/21/2623.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2623

摘要

患儿, 男, 14岁, 主因反复鼻出血12年, 生长发育迟缓5年余入院。入院后检查发现患儿肝脾肿大、肝功能轻度异常、空腹血糖低, 经肝穿刺活检确诊为肝糖原累积病。肝糖原累积病临床少见, 早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 糖原累积病; 肝肿大; 诊断; 治疗

核心提示: 肝糖原累积病作为一种遗传代谢性疾病, 临床少见, 临床医师应提高对本病的认识, 以减少漏诊、误诊, 从而做到早发现、早诊断和早治疗, 这对本病的预后非常重要。同时需长期随访了解疾病的进展, 指导临床治疗, 改善预后。

左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉. 肝糖原累积病1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(25): 2623-2626 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2623.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i25.2623

0 引言

糖原累积病(glycogen storage disease, GSD)是一种罕见的由先天性酶缺陷所导致的糖代谢障碍疾病, 由于糖原代谢的酶缺陷, 以致过量的糖原或异常分子的糖原、中间代谢产物贮存于组织器官内如肝脏、肌肉、心脏、肾脏等而引起临床病变。本病临床少见, 临床表现各异, 早期诊断困难, 而早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。本病国内报道极少, 现将我院1例典型病例并文献复习报道如下。

1 病例报告

患儿, 男, 14岁, 因反复鼻出血12年, 生长发育迟缓5年余于2012-11-04入院。患儿12年前无明显诱因反复出现鼻出血, 时为单侧, 时为双侧, 需

■背景资料

糖原累积病 I 型是由于基因突变导致葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)缺失或活性缺乏而引起的肝细胞微粒体膜缺陷的遗传代谢性疾病。由于糖原代谢的酶缺陷, 以致过量的糖原或异常分子的糖原、中间代谢产物贮存于组织器官内如肝脏、肌肉、心脏、肾脏等而引起临床病变。本病临床少见, 早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。

■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

■研究前沿

目前糖原累积病 I 型(glycogen storage disease type I, GSD-I) 的诊断方法和治疗措施虽已日渐成熟, 早期诊断、合理的饮食、辅助治疗虽可改善生活质量、延缓病情、减少并发症的发生, 但都属于对症治疗, 基因治疗成为研究的热点, 未来有望成为根治GSD-I 型的方法。

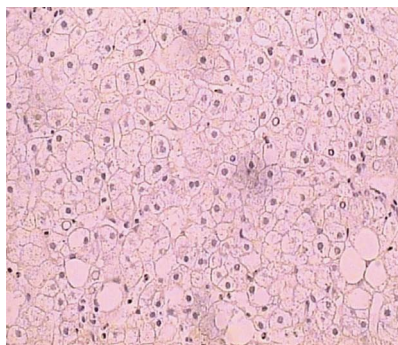


图 1 肝组织HE染色($\times 200$). 肝细胞轻度肿胀, 似植物细胞, 伴大泡性脂肪变性。

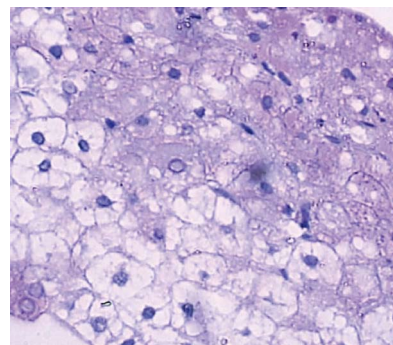


图 2 肝组织PAS染色($\times 400$). 部分细胞内充满红色阳性物质, Dpas(+).

用药物止血, 否则出血持续3-4 d, 偶感活动后气促、心慌, 无呕血、黑便、牙龈出血, 无恶心、呕吐、腹痛、腹胀、皮肤巩膜黄染, 无发热、咳嗽、咳痰、晕厥等症状, 反复在当地医院(丽江市人民医院、鹤庆县中医院、大理州人民医院等)就诊, 行相关检查发现肝脾双肾肿大、肝功异常, 予保肝等对症支持治疗, 症状无好转。于近5年发现发育迟缓, 身高增长7 cm, 体质量增加4-5 kg, 遂至我市儿童医院就诊, 发现胰岛素样生长因子结合蛋白和胰岛素样生长因子均减低, 又至我院耳鼻喉科住院, 均未明确诊断, 现为行进一步诊治门诊以“肝脾肿大查因”收住我科。自患病以来精神、饮食、睡眠欠佳, 小便正常, 自幼大便质稀、黄色, 2-3次/d, 体质量如前述。患儿系足月顺产, 父母非近亲结婚, 其妹患有先心病, 否认其他家族遗传病史。既往史无特殊。查体: 体温36.5℃, 脉搏100次/min, 呼吸20次/min, 血压105/60 mmHg。无特殊面容, 体质量26 kg, 身高125 cm, 轻度营养不良, 五官端正, 无畸形, 意识清楚, 精神欠佳, 智力正常。皮肤、黏膜无黄染, 浅表淋巴结不大, 颈软。心率100次/min, 律齐, 心音有力, 于三尖瓣听诊区可闻及舒张期吹风样2/6级杂音, 双肺听诊未闻及异常。腹部膨隆, 软, 肝右肋下3 cm, 剑突下5 cm可触及, 质软, 表面光滑, 边缘钝, 无压痛及叩击痛, 脾于左肋下4 cm可触及, 质软, 边缘钝, 无压痛。移动性浊音阴性, 肠鸣音正常, 双下肢不肿。外生殖器发育不成熟, 无阴毛, 阴茎及阴囊均小。生理反射存在, 病理反射未引出。我市儿童医院(2010-05-26)G-6PD酶活性: 10.60 U/gHb(参考值5.9-12.0 U/gHb); 胰岛素样生长因子结合蛋白3: 2.01 mg/L(参考值2.7-8.9 mg/L), 胰岛素样生长因子 I: 25.00 ng/mL(参考值143-693 ng/mL); 生长激素正常; 手掌骨龄测算片示: 骨龄约相当于

10.9岁骨龄(实际年龄为约12.5岁)。入院后我院检查资料示: 凝血功能正常; 血常规: 白细胞 $1.94 \times 10^9/L$, 中性粒细胞绝对值 $0.32 \times 10^9/L$, 红细胞 $4.16 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白107 g/L, 血小板 $459 \times 10^9/L$; OGTT试验: 空腹葡萄糖3.10 mmol/L, 餐后1 h葡萄糖7.50 mmol/L, 餐后2 h葡萄糖6.80 mmol/L; 血生化: 白蛋白43.5 g/L, 球蛋白43.2 g/L, A/G比值1.01, 丙氨酸氨基转氨酶45 U/L, 天门冬氨酸氨基转氨酶70 U/L, 碱性磷酸酶157 U/L, 尿素氮2.03 mmol/L, 肌酐20 $\mu\text{mol/L}$, 尿酸432 $\mu\text{mol/L}$, 甘油三酯3.44 mmol/L, 葡萄糖3.55 mmol/L, 铁3.7 mmol/L; 甲、乙、丙、戊型肝炎、艾滋病、梅毒病毒血清标志物均阴性; 铜蓝蛋白: 0.700 g/L(正常值为0.2-0.6 g/L); 骨髓检查示: 粒、红、巨三系明显增生, 各系细胞形态未见明显异常。B超示: (1)肝大、脾大声像; (2)双肾体积增大声像; (3)胆、肝外显示段、胰未见明显异常声像; (4)腹主动脉旁未见异常声像。心电图检查示: (1)窦性心动过速; (2)部分导联T波轻度改变; (3)左心室高电压。心脏彩超示: 轻度三尖瓣返流。MRI示肝脾肿大, 脂肪肝。肝穿组织病检结果回示: 肝细胞广泛透明变性, 胞浆空淡, 细胞轻度肿胀, 似植物细胞, 伴大泡性脂肪变性(图1)、Dpas(+), 部分细胞内充满红色阳性物质(图2), 小叶内未见明显坏死灶, 窦周纤维化。门管区未见明显病变。免疫组织化学染色: CK19和CK7显示胆管正常。HbsAg(-)。其符合糖原累积症。结合患儿临床表现诊断为糖原累积病 I 型。本例诊断明确后主经少食多餐(高蛋白、低脂和富含维生素饮食)、口服生玉米淀粉、保肝、升白细胞等治疗后患儿精神、饮食、睡眠情况较前明显改善, 心情也大为改观。后因其白细胞及中性粒细胞低下考虑可能为患儿脾大、脾功能亢进所致, 经与其家属沟通后, 其愿意选择部分脾

■相关报道

王彦丽等研究国人肝糖原累积症的临床特点显示其首诊误诊率为33.3%。故对其认识仍有待提高。

动脉栓塞术, 术后多次查血常规: 白细胞基本为 $2.72 \times 10^9/L$, 中性粒细胞绝对值 $0.39 \times 10^9/L$, 血小板 $444 \times 10^9/L$, 较前有所改善, 病情好转后出院。随后多次返院复查, 父母代述每天保证1-2餐生玉米淀粉, 辅以牛奶等加餐后患儿一般情况较前有显著改善, 课堂效率明显提高, 身高增加1 cm, 体质量增加1 kg, 出院至今未再发生鼻出血。复查血常规: 白细胞基本保持在 $2.71 \times 10^9/L$, 中性粒细胞绝对值 $0.37 \times 10^9/L$, 血小板 $424 \times 10^9/L$ 左右。凝血功能正常。B超示: 肝大, 轻度脂肪肝声像。脾脏及双肾脏大小正常。患儿的一般情况及生活质量明显改善说明我们的治疗是有效的, 但白细胞及中性粒细胞水平升高不明显, 说明部分脾动脉栓塞术效果有限, 选择何种方案解决这个问题以及怎样最大限度改善患儿的长期预后是我们下一步需要做的。

2 讨论

糖原累积病(glycogen storage disease, GSD)是一种罕见的由先天性酶缺陷所导致的糖代谢障碍疾病, 大多为常染色体隐性遗传, 少数属x连锁隐性遗传。根据酶缺陷不同和糖原在体内沉积部位的不同分为14个型, 其中I、III、IV、VI、IX型以肝脏病变为主, V、VII型以肌肉组织受损为主。临床上以糖原累积病I型(glycogen storage disease type I, GSD-I)最常见, 其发病率约为1/10万^[1]。GSD-I型是由于基因突变导致葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)缺失或活性缺乏而引起的肝细胞微粒体膜缺陷的遗传代谢性疾病。主要有GSD-I a和GSD-I b两种亚型, 其中I a型约占80%, I b型约占20%^[2]。

GSD-I型多发生于婴儿、幼儿和青少年儿童, 近些年来国外报道较多, 国内偶见报道。由于其临床表现、影像学检查及检验结果缺乏特异性, 早期诊断困难, 本例患儿先后到多家医院就诊, 均未明确诊断, 对患者的生理、心理及家庭经济造成了极大的伤害。为明确诊断在知情同意下并签定肝穿刺活检手术同意书后行肝穿刺活检术, 病检结果回示符合糖原累积症。结合患儿反复鼻出血、身材矮小、发育迟缓、空腹低血糖、高尿酸血症、高脂血症、肝脾肾脏增大等, 临床诊断为GSD-I型。由于本院条件有限尚不能行该病的基因测定, 结合中性粒细胞水平低下^[3,4], 考虑为糖原累积病I b型。本病治疗的总目标是维持血糖正常, 抑制低血糖所继发

的各种代谢紊乱, 从而减轻临床症状、延缓并发症的出现, 以提高生活质量、改善长期预后。本病目前尚无特效治疗, 其中饮食治疗是本病的主要治疗手段, 主要通过少食多餐、口服生玉米淀粉治疗, 在疾病的早期, 合理的饮食治疗可以改善生活质量、延缓病情、减少并发症的发生; 由于许多病例发现时已有很多不可逆转的并发症, 故需采用其他辅助治疗措施以改善症状及长期预后。例如本例患儿予以还原型谷胱甘肽保肝治疗及重组人粒细胞集落刺激因子升白细胞治疗等。脾大脾功能亢进者, 亦可像本例患儿一样选择部分脾动脉栓塞术, 但其效果因人而异。有条件者(特别是并发肝腺瘤者)可选择肝移植^[5], 而干细胞移植^[6]也可为本病提供一种新的治疗手段; 未来的基因治疗有望成为根治GSD-I型的方法^[7], 为患者带来了一丝曙光。当然本病是一种需要终身治疗的疾病, 不治疗和不正确治疗都会造成严重后果。

GSD-I型的诊断方法和治疗措施虽已日渐成熟, 患儿的平均生存年龄也有明显提高, 但随着年龄增长, 各种并发症也日益突出, 其中肝腺瘤恶变和进行性肝肾功能不全主要是主要的死亡原因。因此, 需长期随访了解疾病的进展, 指导临床治疗, 改善预后。

总之, 本病罕见, 临床上常由于对其缺乏认识而导致无法确诊甚至误诊误治, 王彦丽等^[8]研究国人肝糖原累积症的临床特点显示其首诊误诊率为33.3%。早期诊断及合理治疗对本病预后非常重要。结合本例我们有如下体会: (1)临床上发现反复鼻出血、生长发育迟缓、空腹低血糖、高尿酸血症、高脂血症、肝脾肾脏增大等要考虑GSD可能; (2)GSD可有肝脾肿大、肝酶学轻度异常, 如本例ALT、AST轻度升高, 但这些变化为非特异性的, 应注意与能引起同样表现的疾病相鉴别, 如脂肪性肝炎、酒精性肝病、肝豆状核变性以及肝淀粉样变等; (3)由于本病影像学表现无特异性, 实验室指标个体差异大, 病理学检查或基因检测^[9]成为确诊依据, 本例在当地多家医院及本市多家医院虽行系列检查, 但因未行肝穿刺活检, 故均未能明确诊断。入住我科后, 经查阅大量文献并作为疑难病例讨论后, 予行肝穿刺活检而明确诊断, 同时提高了本科医师对该病的认识; (4)本病目前虽无特效治疗, 但合理的饮食治疗可以改善患者的生活质量、延缓病情、减少并发症的发生; (5)早发现、早诊断、早治疗对本病的预后也有重要

■创新盘点

本文介绍1例经肝穿活检明确诊断的肝糖原累积病, 详细描述了其诊治经过, 同时结合相关文献复习, 概括了本病的病因、临床表现、诊断及治疗现状。

■应用要点

本文报道了1例典型的肝糖原累积病病例并结合相关文献从多个方面阐述本病, 有助于临床医师了解本病。同时表明对不明原因的肝损伤患者, 肝穿刺活检占有重要地位。

■同行评价

本文以1案例报告为基础结合复习文献,从病因、临床表现、诊断以及治疗现状等诸方面进行了总结、分析和阐述,对临床工作有一定指导意义。

的意义。需长期随访了解疾病的进展,指导临床治疗,改善预后。

3 参考文献

- 1 Ozen H. Glycogen storage diseases: new perspectives. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2541-2553 [PMID: 17552001]
- 2 王霞,邱文娟. 糖原累积病 I 型研究进展. *国际儿科学杂志* 2008; 35: 436-438
- 3 D'Eufemia P, Finocchiaro R, Celli M, Zambrano A, Tetti M, Ferrucci V, Lenti L. Absence of severe recurrent infections in glycogen storage disease type Ib with neutropenia and neutrophil dysfunction. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 105 [PMID: 17187242]
- 4 Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Neutropenia in type Ib glycogen storage disease. *Curr Opin Hematol* 2010; 17: 36-42 [PMID: 19741523 DOI: 10.1097/MOH.0b013e328331df85]
- 5 Maheshwari A, Rankin R, Segev DL, Thuluvath PJ. Outcomes of liver transplantation for glycogen stor-

age disease: a matched-control study and a review of literature. *Clin Transplant* 2012; 26: 432-436 [PMID: 22066793 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2011.01549.x]

- 6 Pierre G, Chakrapurakal G, McKiernan P, Hendriksz C, Lawson S, Chakrapani A. Bone marrow transplantation in glycogen storage disease type 1b. *J Pediatr* 2008; 152: 286-288 [PMID: 18206704 DOI: 10.1016/j.jpeds]
- 7 Koeberl DD, Kishnani PS, Bali D, Chen YT. Emerging therapies for glycogen storage disease type I. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20: 252-258 [PMID: 19541498 DOI: 10.1016/j.tem.2009.02.003]
- 8 王彦丽,崔巍,刘沛. 国人肝糖原累积症的临床特点研究. *中国全科医学* 2012; 8: 2531-2532
- 9 Fingerman M, Fingerman SW. The effects of 5-hydroxytryptamine depletors and monoamine oxidase inhibitors on color changes of the fiddler crab, *Uca pugnator*: further evidence in support of the hypothesis that 5-hydroxytryptamine controls the release of red pigment-dispersing hormone. *Comp Biochem Physiol C* 1975; 52: 55-59 [PMID: 205 DOI: 10.1515/CCLM.2010.244]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

卜平 教授
扬州大学医学院, 苏北人民医院消化内科308病区

陈炳官 教授
上海东方国际医院普外科; 上海东方医院消化医学部; 同济大学附属东方医院

陈洪 副教授
东南大学附属中大医院消化科

丁惠国 教授
首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

范恒 教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科

傅晓辉 副教授
东方肝胆外科医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

李胜 研究员
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

马欣 主任医师
甘肃省人民医院消化科

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

孙诚谊 教授
贵阳医学院附属医院院长办

万军 教授
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

汪思应 教授
安徽医科大学

魏继福 研究员
江苏省人民医院

肖文华 主任医师
中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

颜宏利 教授
中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

杨建民 教授
浙江省人民医院消化内科

余日胜 主任医师
浙江大学医学院附属第二医院放射科

喻春钊 教授
南京医科大学第二附属医院普通外科九区

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>



世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 9 月 18 日 第 21 卷 第 26 期 (Volume 21 Number 26)



26 / 2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年9月18日 第21卷 第26期 (总第430期)

述 评	2627 从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响 宋新明, 李欣欣
基础研究	2633 氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响 陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 陈敏, 姜德立, 王坤, 王平江, 张建新
临床研究	2641 胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF- κ B表达的关系 裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩 2649 原发性肝细胞癌CDC25A的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析 郭艳, 王茜, 杨志杰
文献综述	2655 糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展 张慧, 张庆 2661 肾素-血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用 黄元龙, 邓明明 2668 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展 王娜, 姜慧卿 2674 幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗 朱振红, 唐旭东, 王风云, 郭朋 2679 循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗 李军, 殷正丰
研究快报	2685 TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用 张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维 2690 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响 高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明
临床经验	2694 食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比 芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅 2698 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理 黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英 2702 胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响 黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 田德安 2708 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价 赵振飞, 高鸿亮, 姚萍 2717 胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义 孙伟, 高芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹 2724 抑癌基因 <i>p16</i> 与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系 高平, 高亚杰 2728 肝移植受者早期EC-MPS药代动力学的临床特点 李鹏飞, 谢俊杰, 陈冰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏 2734 腹腔镜胆囊切除手术治疗“高危”胆囊结石93例 蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉 2739 原发性十二指肠腺瘤的手术方式 周兵, 刘斌, 汪正伟, 王飞通, 魏鑫, 牛坚 2743 促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用 曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦 2748 信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义 卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕申, 李岩

	2754 儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效 张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波
附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2632 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2640 《世界华人消化杂志》正文要求 2648 《世界华人消化杂志》出版流程 2654 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2667 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2673 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2689 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2693 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2707 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 2733 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 2738 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2742 WJG总被引频次排名位于第174名 2747 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2758 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 宋新明, 教授, 510080, 广东省广州市, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-09-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公
司所有

World Chinese Journal of Digestology

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 26

EDITORIAL	2627 Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer <i>Song XM, Li XX</i>
BASIC RESEARCH	2633 Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis <i>Chen JX, Liu B, Dang SC, Chen M, Jiang DL, Wang K, Wang PJ, Zhang JX</i>
CLINICAL RESEARCH	2641 Correlation between expression of CARMA1 and NF- κ B proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma <i>Pei YY, Yang WX, Meng Q, Chen Q, Li PH</i> 2649 Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma <i>Guo Y, Wang Q, Yang ZJ</i>
REVIEW	2655 Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma <i>Zhang H, Zhang Q</i> 2661 Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis <i>Huang YL, Deng MM</i> 2668 Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice <i>Wang N, Jiang HQ</i> 2674 Immune factors affecting eradication of <i>Helicobacter pylori</i> : Implications for immunotherapy <i>Zhu ZH, Tang XD, Wang FY, Guo P</i> 2679 Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy <i>Li J, Yin ZF</i>
RAPID COMMUNICATION	2685 Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an <i>in vitro</i> model <i>Zhang LY, Tang GD, Tang XP, Liang ZH, Zhan Y, Li WW</i> 2690 Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells <i>Gao XL, Wang BY, Chen YL, Zai YB, Bai M</i>
CLINICAL PRACTICE	2694 Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices <i>Lu YF, Gao Q, Wang Y, Jiang HM</i> 2698 Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery <i>Huang CZ, Wang F, Xu MM, Tang Q, Liu LY</i> 2702 Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells <i>Li YJ, Hu YQ, Chen WG, Li R, Chen YZ, Tian DA</i> 2708 Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review <i>Zhao ZF, Gao HL, Yao P</i> 2717 Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer <i>Sun W, Gao F, Long QF, Wang XL, Zhu DR, Gu CL, An J, Dang GQ, Wu Q</i> 2724 Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy <i>Gao P, Gao YJ</i> 2728 Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation <i>Li PF, Xie JJ, Chen B, Jin JB, Deng XX, Chen H, Shen BY, Peng CH</i> 2734 Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases <i>Cai ZF, Dui DH, Lan TG, Liu Y, Huang H</i> 2739 Surgical treatments for primary duodenal adenoma <i>Zhou B, Liu B, Wang ZW, Wang FT, Wei X, Niu J</i> 2743 Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation <i>Zeng J, Wang QN, Feng WZ, He HQ</i>

	<p>2748 Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma <i>Lu SM, Chen MR, Xuan JY, Liu LN, Lv S, Li Y</i></p> <p>2754 Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer <i>Zhang Q, Song JY, Hu SJ, Cheng J, Ao CB</i></p>
APPENDIX	<p>I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i></p> <p>I Meeting events calendar in 2013</p>
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Xin-Ming Song, Professor, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i></p> <p>English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i></p> <p>Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 18, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响

宋新明, 李欣欣

宋新明, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科 广东省广州市 510080

李欣欣, 汕头大学医学院第一附属医院胃肠外科 广东省汕头市 515041

宋新明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事结直肠癌的外科临床和基础研究.

作者贡献分布: 宋新明选题并指导论文的撰写; 李欣欣检索资料并撰写论文.

通讯作者: 宋新明, 教授, 510080, 广东省广州市中山二路58号, 中山大学附属第一医院胃肠胰外科. songxm2010@163.com

电话: 020-87755766

收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-13

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Rectal neoplasms; Stoma; Quality of life

Song XM, Li XX. Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2627-2632 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2627.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2627>

■背景资料

直肠癌是我国最常见的恶性肿瘤之一. 直肠癌患者术后常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面的损害. 其中永久性肠造口给患者带来多大的影响一直是最受关注的问题之一.

Impact of permanent stoma on health-related quality of life in patients with rectal cancer

Xin-Ming Song, Xin-Xin Li

Xin-Ming Song, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Xin-Xin Li, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xin-Ming Song, Professor, Department of GI Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 58 Zhongshan Er Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. songxm2010@163.com

Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-13

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

Colorectal cancer is the third most common malignancy in China, with the incidence rising year by year. Despite major improvement in treatment of rectal cancer over the past two decades, surgery is still the preferred curative treatment. As a traumatic procedure, resection of the rectum compromises psychological aspects, defecation, micturition and sexual function. Of all factors that possibly influence the patient's quality of life, permanent stoma is always one of the biggest concerns. Health-related quality of life (HRQoL) provides an important instrument to judge this problem from the view of patients. This article will review the progress in research of quality of life in rectal cancer patients with permanent stoma and analyze the QoL domains affected by stoma and the factors which can affect the QoL assessment.

摘要

在我国, 结直肠癌的发病率已经上升至恶性肿瘤的第3位, 目前根治性手术仍是直肠癌的首选治疗方式. 但直肠癌患者术后常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面的损害. 其中永久性肠造口给患者带来多大的影响一直是最受关注的问题之一. 生存质量测评为医疗工作者提供了一个从患者的角度看待这个问题的工具. 本文就直肠癌永久性肠造口患者的生存质量研究进展、肠造口对患者生存质量影响的主要领域以及影响评估的因素做一述评.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 直肠癌; 造口; 生活质量

核心提示: 本文就直肠癌永久性肠造口患者的生存质量研究进展、肠造口对患者生存质量影响的主要领域以及影响评估的因素作一述评.

宋新明, 李欣欣. 从生存质量的角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2627-2632 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2627.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2627>

0 引言

直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 我国低位直肠癌约占全部直肠癌的3/4^[1,2]. 相对于高位直肠癌, 低位直肠癌患者术后生存质量受损更为严重^[3-5], 其中永久性腹壁肠造口的影响无疑是最受关注的因素之一. 临床工作中, 医生们经常要

■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科

■ 研发前沿

生存质量测评提供了一个工具,使医疗工作者得以从另一个角度去评价造口给患者造成多大的影响。

思考的重要问题是永久性肠造口给患者的生存质量(health-related quality of life, HRQoL),简称QoL,带来多大的损害?生存质量测评提供了一个工具,使医疗工作者得以从患者的角度去看待这个问题。

1 直肠癌术后永久性肠造口的生存质量研究

生存质量研究起源于20世纪30年代的美国,在80年代形成医学领域的研究热潮^[6]。1993年在日内瓦召开的世界卫生组织生存质量研讨会上将生存质量概念界定为:不同文化和价值体系中的个体,对与他们的目标、期望、标准以及所关心的事情有关的生存状况的体验^[7]。由于很多肿瘤难以治愈,生存质量评估在肿瘤治疗中更被重视和强调,在一定程度上甚至决定着手术或其他治疗的决策^[8],直肠癌就是一个典型例子。直肠癌术后患者常要面对排便、泌尿、性功能及社会、心理等各方面功能损害。当前的医疗模式对外科医师提出更高的要求,需达到“功能”与“根治”两者的紧密结合,提高术后生活质量^[9]。这其中,造口对生存质量的影响一直是被讨论最多的。

永久性肠造口患者生存质量研究始于20世纪70年代,早期研究毫无例外的都指出造口对生存质量的恶劣影响:得分严重下降^[10-13],身体形象恶化,社会隔绝增加^[14]等等。但医学全面的进步、生存质量研究的深入和对造口认识的加深使得研究结论逐渐产生变化,一些研究^[5,15,16]发现经腹会阴联合切除术(abdominoperineal resection, APR)患者的生存质量并不比直肠前切除术(anterior resection, AR)患者的低,在有些领域的生存质量造口患者甚至更好。Pachler等^[17]在2010年综述了包括3675例患者的26篇临床研究文献,发现有10项研究结果显示APR或者Hartmann手术患者术后生存质量并不逊于AR手术患者,其余的研究结果也仅在部分领域的生存质量上认为保肛优于造口手术。到了2012年,这个系列综述再次更新^[18],纳入的研究增加到了35项,病例数达到5127例,但是结论依然相同。从这个Cochrane系列综述可以看到,永久性造口给患者带来的影响仍有进一步研究的空间,而对于永久性造口与保留肛门的低位直肠癌患者术后生活质量孰优孰劣的问题仍然没有定论。

2 永久性肠造口对生存质量影响的主要领域

2.1 肠道和排便功能 肠道和排便功能一直是直

肠癌术后医生与患者关注的主要领域。保肛患者术后常见症状包括肠蠕动活跃、便秘、腹胀、便频、便急甚至大便失禁等,尤其是低位前切除术后出现大便失控的几率更高。而造口患者除了排便控制问题,更困扰他们的还有排气和身体异味。

早期的一些研究^[13,19]多显示造口患者排便方面的生存质量得分比行前切除术者差,造口者几乎100%不能控便,并且因为造口排气和身体异味容易造成患者及身边人的不快,对饮食的限制明显多于保肛者。后来的研究结果有所不同,Grumann等^[5]与Frigell等^[20]的研究显示对此领域的生存质量,造口的影响与保肛者并无明显差异。到了近年,又有Jess等^[21]和Pucciarelli等^[22]的研究证明肠造口对此领域的生存质量影响很小,而低位前切除术后的排便失禁则影响严重^[23]。可以看到,造口患者在肠道和排便功能方面的生存质量随着医学进步在逐渐改善,我们认为,这与造口治疗、护理方面的研究发展以及造口护理材料的研制开发是密不可分的。

2.2 性功能 直肠癌术后患者较易出现性功能障碍,随着直肠全系膜切除结合盆腔自主神经保护(pelvic autonomic nerve preservation, PANP)手术技术的开展和推广,可使盆腔神经得到仔细辨认并加以保护,减少了术后性功能障碍发生率,但PANP术后勃起功能障碍发生率仍达32.7%,射精功能障碍发生率也有44.2%^[24]。从生存质量测量的结果来看,男性APR术后的勃起和射精障碍发生率非常高,为18%-92%^[13,19,25],AR术后较低为9%-30%^[3,26,27]。这与两者手术方式和切除范围不同不无关系,但必须强调的是,其中也存在由于造口导致心理障碍的因素。张华等^[28]的研究提示部分患者担心造口不卫生,担心性生活会有害于配偶及影响病情,导致对性生活冷淡,甚至性障碍。说明心理障碍确实存在于一部分患者群体中,像这样因康复知识缺乏引起的心理障碍是可以经过术前术后的健康教育和知识宣讲来有效纠正的。而有些患者的心理障碍则是由疾病带来的压抑情绪、身体感觉的改变和造口引起的视觉及心理不适造成,继而引起性功能障碍,这种障碍则需要更专业的心理辅导治疗。

2.3 心理功能 既往的研究多显示造口术后患者发生心理障碍者明显高于保肛术者^[19,29]。研究显示造口患者因造口的存在而在身体形象和完整性的评估上明显差于保肛患者,再加上臭味

及大便失禁等给患者带来的社会隔绝增加和心理影响, 都导致造口患者更容易出现心理障碍。直肠癌术后心理障碍主要表现为压抑、孤独、自杀倾向、耻辱感、自卑感及焦虑。年龄和性别是重要的影响因素, 年轻患者心理障碍明显多于老年患者, 而女性多于男性^[30]。但近年的一些研究显示造口组与保肛组间并无显著差异。在Sideris等^[31]的研究中除欧洲癌症研究与治疗组织生存质量量表外加行了焦虑症和抑郁症的量表调查, 结果发现造口组与保肛组间并无显著性差异。Campos-Lobato等^[32]用测量心理功能的mSF-36量表调查发现, 术前APR比LAR组患者得分明显降低, 而术后6、12、36 mo则两组差异没有统计学意义。可见随着社会的进步和人们对疾病和造口认识水平的逐步提高, 造口造成的心理障碍正在逐渐减少。

2.4 社会功能 造口术后患者因造瘘口的存在、臭味和大便失禁而不愿接触社会, 而保肛术后患者也因为大便失禁、便频等排便功能障碍而限制了社会活动^[20]。生存质量的研究中多发现前者的社会功能全面差于后者。Frigell等^[20]和William等^[19]报道, 保肛者术后重新工作者为79%, 而造口者仅为20%。造口者发生社会关系恶化显著多于保肛者, 并且出现婚姻问题者更多^[30], 但是大多数患者与亲人朋友的关系并无损害^[20]。大多数直肠癌患者术后社会活动减少, 而造口患者减少的程度更加严重^[19]。

社会功能领域的生存质量多与患者年龄和性别密切相关。Macdonald等^[30]报道, 在造口者中, 女性比男性差, 年轻患者差于老年患者。国内的一些研究也得到了相近的结果, 许勤等^[33]对直肠癌造口患者用造口患者社会心理适应量表OAI-23进行研究, 发现女性患者的社会心理适应水平较男性患者低。这些结果提示随访人员在术后随访时应该更加关注女性和年轻造口患者。

3 影响永久性肠造口生存质量评估的因素

3.1 术后时间 直肠癌术后随着患者机体创伤的逐渐修复、功能锻炼的开展和对日常生活的适应, 生存质量各领域得分随着时间能逐渐恢复。Camilleri-Brennan等^[34]和陈静等^[35]的研究显示直肠癌术后3 mo内, 大多数生存质量指标比术前明显下降, 3-6 mo后, 逐渐回升到术前的水平, 患者自我评价的总体生存质量得分和情感功能得分明显高于术前。Ramsey等^[36]的研究也显示术后5年以上的直肠癌术后患者总体生存质量均很高,

大部分患者对自己的生活质量“很满意”。

但是, 有的学者^[31]认为永久性造口会是直肠癌患者一个无法抹除的大伤疤, 尽管手术造成的其他创伤可以修复, 肠造口带来的身体形象的损害却永远无法消除。但更多的研究显示在长期生存的患者中, 造口与保肛手术患者的生存质量没有明显区别。日本的Hamashima等^[37]报道, 在术后5年以上的患者中, 影响生存质量的主要因素是生活方式、肠道症状和日常活动, 而造瘘口对生存质量已没有明显影响。得到类似结果的还有Campos-Lobato等和Arndt等^[32,38]的研究。术后需要多长的时间肠造口对患者的影响才能逐渐消退仍无定论。

3.2 性别与年龄 生存质量作为一个反映主观感受的多维指标, 很多领域都与性别、年龄密切相关。在造口与保肛问题上, 也有很多研究显示男性与女性的术后生存质量存在差别, 除了少数研究^[39], 大多数结果^[37,31,41,42]显示男性造口患者的生存质量好于女性。分析其原因, Marquis等^[40]认为很多直肠癌男性患者年纪较大和已经退休, 不会因为工作而影响造口的护理。Pérez Lara等^[42]认为是女性比男性有更多的健康和生理问题, 有更长的生存时间。Sideris等^[31]则发现女性有更多的疲劳和食欲丧失的问题。Krouse等^[41]设计的直肠癌术后永久性造口与非造口患者生存质量临床配对实验, 结果显示只有女性在总体生存质量和心理感受等项目上才有差异, 而男性没有。而且, 造口对于年龄<75岁的女性影响更为明显, 由此强调需重点关注<75岁女性造口患者术后生存质量情况。

3.3 经济状况与教育程度 造口患者每个月需要有固定的支出来维持造口设备的消耗和更新, 有些还要支付造口护理和治疗费, 长期积累下来, 在手术及放化疗费用之外也是一笔不小的支出。因此社会底层的患者群体中, 会出现因为经济状况影响造口护理而导致生存质量下降的情况。另外, 教育程度低对于理解及配合造口护理也是一个障碍。在Kuzu等^[4]在穆斯林人群的研究里, 来自于社会较穷苦、收入较低和教育程度较低的老百姓, 因为经济原因对造口无法进行适当、积极的护理及康复治疗, 使得造口对生存质量的影响大于其他阶层患者。来自发达国家的研究也得到同样的结果, Coons等^[43]对美国退伍军人造口患者进行了生存质量调查, 发现因为经济困难难以负担造口设备与总体生存质量低下相关。法国的研究^[31]也有相似的结果。

■相关报道

从Cochrane的系列综述可以看到, 永久性造口与保留肛门的低位直肠癌患者术后生活质量孰优孰劣的问题到目前仍无定论。

■创新盘点

永久性肠造口对生存质量影响的主要领域包括肠道和排便功能、性功能、心理功能和社会功能。影响直肠癌患者对永久性肠造口生存质量评估的因素包括术后时间、性别与年龄、经济状况与教育程度、地理位置与宗教信仰、造口护理与健康教育和所用的生存质量量表等。

果。在我国,张华等^[28]对直肠癌永久性结肠造口患者术后6 mo内的生存质量用C30和CR38进行了调查,发现经济困难得分随时间的延长也在增加,认为购买造口用品以及治疗所需的费用给患者的经济带来一定的压力。要提高造口患者的生存质量,需要采取措施减少患者因造口带来的经济负担。

3.4 地理位置与宗教信仰 生存质量测定强调了个体的主观体验、文化背景和价值观念,他根植于患者所处的文化和社会环境中。患者的宗教信仰、地理位置、社会环境都会对生存质量产生影响。Holzer等^[44]进行了一个包括了欧洲与地中海地区的11个国家13个中心的直肠癌术后生存质量多中心前瞻性研究,发现生存质量呈由北欧、中欧、南欧到阿拉伯和亚洲地区的由北向南的逐步下降,生存质量最差的数据来自穆斯林人群。作者分析认为除了宗教,气候也是原因之一,在气候温暖的地区,造口对患者的影响显得更突出,而地处北方的国度,患者可以把造口“藏”到厚重的衣服里。在其中一个中心,Kuzu^[4]对穆斯林人群进行了研究,发现造口患者因为排便等使生存质量受到了显著的影响,有些患者甚至因此影响了日常祷告和斋戒,从而对社会功能领域的生存质量影响巨大。对不同地域、文化背景及宗教信仰的造口患者生存质量进行研究和分析可以更具体的指导康复治疗和心理辅导。

3.5 造口护理与健康教育 术后造口护理技术和造口相关并发症防治水平的提高都能有效减轻造口给患者带来的身体痛苦和生活不便,提高生活质量。刘珊^[45]通过对造口患者进行包括造瘘口护理、心理疏导、增加家庭及社会关爱和出院后护理的干预措施,发现比仅进行常规护理的患者生活质量多个领域都有明显改善。Shibata等^[46]也认为对造口护理与结肠灌洗等进行正确的指导,可以有效减少造口带来的问题,提高患者生存质量。除了造口护理,心理辅导及健康教育等也能减轻患者的心理压力,减少社会隔绝,路潜等^[47,48]的研究发现参加造口联谊会的患者在心理功能和减轻负性情绪方面要好于未参加者。

从一些研究我们可以看到造口护理技术水平和覆盖范围较大的地区造口患者的生存质量要好于较落后地区,造口护理技术水平较高的年代造口患者的生存质量要好于较落后的年代。Holzer等^[44]的多中心研究结果显示欧洲造口患者术后生存质量比阿拉伯地区高,与欧洲大陆

术后造口护理覆盖范围较广也有关系,造口师的指导和咨询对改善造口患者的生活质量起到了很大的作用。在专业造口师指导下,患者较容易克服造口带来的问题,甚至能自己采用一些工具或措施如造口灌洗等改善排便功能。

3.6 生存质量量表 生存质量测定量表按照使用对象分为普适量表、疾病专表和领域专表。因为单用普适量表和癌症专用量表都不能涵括直肠癌的症状维度,不够全面和敏感,因此近年来直肠癌患者术后生存质量测定多采用包括了癌症专用量表及结直肠癌专用量表的组合式量表,但选用哪一份量表并无规则标准可依。有研究发现,即使对于同一人群,用不同的量表得到的生存质量测定结果也存在差异。

Jess等^[21]在2002年用了普适量表SF-36测量发现APE患者除心理健康外的所有领域生存质量差于AR患者,但差异无统计学意义。而用疾病特异性量表FIQL测量却发现在绝大多数领域的生存质量APE差于AR患者,且差异有统计学意义。同样在2002年,Kuzu等^[4]与Camilleri-Brennan等^[49]也用了SF-36量表进行研究,结果与Jess的研究又有所不同。Kuzu等发现APE患者生存质量明显差于AR患者。而Camilleri的研究显示APE除了身体形象方面得分差于AR外,其余得分差异无统计学意义。也许只有像这样应用同一量表进行的研究,才更有可比性,得到的结果才有足够说服力。因此,在研究目的和方案相近的研究中应该尽量规范使用相同的经过验证的生存质量量表。

4 结论

从以上的生存质量研究可以看到,造口对于直肠癌患者的影响根据年龄、性别、经济、教育、宗教、地域等有所区别,也会随着时代的变动、医学的进步不断变化。生存质量评估为医疗工作者提供了另一个看待这个问题的角度,让我们可以更客观、全面的去评价造口对患者的影响,更具体更有针对性的进行随访、后续治疗和健康教育,甚至协助医师制订手术方案。从现有的研究来看,造口对直肠癌患者带来的影响或许并不如大多数人想象中那么可怕。

展望未来的直肠癌生存质量研究,如果能将直肠癌患者术后生存质量测评结果标准化及量化,与人口学和临床因素等综合分析,解答诸如具备什么样特征的患者术后更能承受永久性造口带来的不良影响的实际问题,甚至总结、

研发“直肠癌术后生存质量风险评估(评分)系统”, 将可以协助外科医生高度个体化的量身定做中下段直肠癌患者的手术方案。

5 参考文献

- 1 Steward B W KP. World Cancer Report. Lyon: IARC Press, 2003
- 2 吴菲, 林国栋, 张晋昕. 我国恶性肿瘤发病现状及趋势. 中国肿瘤 2012; 21: 81-85
- 3 Engel J, Kerr J, Schlesinger-Raab A, Eckel R, Sauer H, Hölzel D. Quality of life in rectal cancer patients: a four-year prospective study. *Ann Surg* 2003; 238: 203-213 [PMID: 12894013 DOI: 10.1097/01.sla.0000080823.38569.b0]
- 4 Kuzu MA, Topçu O, Uçar K, Ulukent S, Unal E, Erverdi N, Elhan A, Demirci S. Effect of sphincter-sacrificing surgery for rectal carcinoma on quality of life in Muslim patients. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1359-1366 [PMID: 12394435 DOI: 10.1097/01.DCR.0000027033.51575.21]
- 5 Grumann MM, Noack EM, Hoffmann IA, Schlag PM. Comparison of quality of life in patients undergoing abdominoperineal extirpation or anterior resection for rectal cancer. *Ann Surg* 2001; 233: 149-156 [PMID: 11176118]
- 6 郑良成, 田辉荣, 谢培增. 医学生存质量评估. 北京: 军事医学科学出版社, 2005
- 7 WHO. Development of the WHO Quality of Life Assessment Instrument. In: WHO, ed. Geneva, 1993
- 8 Avery K, Blazeby JM. Quality of life assessment in surgical oncology trials. *World J Surg* 2006; 30: 1163-1172 [PMID: 16794901 DOI: 10.1007/s00268-006-0075-8]
- 9 郁宝铭. 当前直肠癌治疗的策略. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2371-2376
- 10 Sprangers MA, Taal BG, Aaronson NK, te Velde A. Quality of life in colorectal cancer. Stoma vs. non-stoma patients. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 361-369 [PMID: 7720441]
- 11 Küchenhoff J, Wirsching M, Drüner HU, Herrmann G, Köhler C. Coping with a stoma - a comparative study of patients with rectal carcinoma of inflammatory bowel diseases. *Psychother Psychosom* 1981; 36: 98-104 [PMID: 7342166]
- 12 Zieren HU, Jacobi CA, Zieren J, Müller JM. [Assessment of quality of life after resection of colorectal carcinoma]. *Chirurg* 1996; 67: 703-708; discussion 709 [PMID: 8925699]
- 13 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Quality of life after treatment for rectal cancer. *Br J Surg* 1998; 85: 1036-1043 [PMID: 9717993 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1998.00808.x]
- 14 Keltikangas-Järvinen L, Loven E, Möller C. Psychic factors determining the long-term adaptation of colostomy and ileostomy patients. *Psychother Psychosom* 1984; 41: 153-159 [PMID: 6729011]
- 15 Vironen JH, Kairaluoma M, Aalto AM, Kellokumpu IH. Impact of functional results on quality of life after rectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 568-578 [PMID: 16583289 DOI: 10.1007/s10350-006-0513-6]
- 16 Harisi R, Bodoky G, Borsodi M, Flautner L, Weltner J. Rectal cancer therapy: decision making on basis of quality of life? *Zentralbl Chir* 2004; 129: 139-148 [PMID: 15106048 DOI: 10.1055/s-2004-818743]
- 17 Pachler J, Wille-Jørgensen P. Quality of life after rectal resection for cancer, with or without permanent colostomy. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2): CD004323 [PMID: 15846707 DOI: 10.1002/14651858.CD004323.pub3]
- 18 Pachler J, Wille-Jørgensen P. Quality of life after rectal resection for cancer, with or without permanent colostomy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD004323 [PMID: 23235607 DOI: 10.1002/14651858.CD004323.pub4]
- 19 Williams NS, Johnston D. The quality of life after rectal excision for low rectal cancer. *Br J Surg* 1983; 70: 460-462 [PMID: 6871635]
- 20 Frigell A, Ottander M, Stenbeck H, Pählman L. Quality of life of patients treated with abdominoperineal resection or anterior resection for rectal carcinoma. *Ann Chir Gynaecol* 1990; 79: 26-30 [PMID: 2357050]
- 21 Jess P, Christiansen J, Bech P. Quality of life after anterior resection versus abdominoperineal extirpation for rectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1201-1204 [PMID: 12408526]
- 22 Pucciarelli S, Del Bianco P, Toppan P, Serpentine S, Efficace F, Pasetto LM, Friso ML, De Salvo GL, Nitti D. Health-related quality of life outcomes in disease-free survivors of mid-low rectal cancer after curative surgery. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1846-1854 [PMID: 18459006 DOI: 10.1245/s10434-008-9923-0]
- 23 马骏, 冯勇, 丛进春, 刘恩卿. 低位直肠癌保肛术后的吻合口水平对排便功能及生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 221-224
- 24 汪建平, 杨祖立, 唐远志, 王磊. 直肠癌根治术中盆腔自主神经保留对男性性功能的影响. 中国实用外科杂志 2003; 23: 46-48
- 25 Hojo K. [Treatment of colorectal cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1986; 13: 192-202 [PMID: 3947103]
- 26 Filiberti A, Audisio RA, Gangeri L, Baldini MT, Tamburini M, Belli F, Parc R, Leo E. Prevalence of sexual dysfunction in male cancer patients treated with rectal excision and coloanal anastomosis. *Eur J Surg Oncol* 1994; 20: 43-46 [PMID: 8131868]
- 27 Heald RJ, Karanjia ND. Results of radical surgery for rectal cancer. *World J Surg* 1992; 16: 848-857 [PMID: 1462619]
- 28 张华, 李峥. 永久性结肠造口患者生存质量的调查分析. 中华护理杂志 2006; 41: 594-597
- 29 Wirsching M, Drüner HU, Herrmann G. Results of psychosocial adjustment to long-term colostomy. *Psychother Psychosom* 1975; 26: 245-256 [PMID: 1234660]
- 30 MacDonald LD, Anderson HR. Stigma in patients with rectal cancer: a community study. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 284-290 [PMID: 6512480]
- 31 Sideris L, Zenasni F, Vernerey D, Dauchy S, Lasser P, Pignon JP, Elias D, Di Palma M, Pocard M. Quality of life of patients operated on for low rectal cancer: impact of the type of surgery and patients' characteristics. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2180-2191 [PMID: 16228842 DOI: 10.1007/s10350-005-0155-0]
- 32 Campos-Lobato LF, Alves-Ferreira PC, Lavery IC, Kiran RP. Abdominoperineal resection does not decrease quality of life in patients with low rectal cancer. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66: 1035-1040 [PMID: 21808871]
- 33 许勤, 程芳, 戴晓冬, 杨宁琨. 永久性结肠造口患者社会心理适应及相关因素分析. 中华护理杂志 2010; 45: 883-885

■应用要点

生存质量评估为医疗工作者提供了另一个看待这个问题的角度, 让我们可以更客观、全面的去评价造口对患者的影响, 更具体更有针对性的进行随访、后续治疗和健康教育, 甚至协助医师制订手术方案. 从现有的研究来看, 造口对直肠癌患者带来的影响或许并不如大多数人想象中那么可怕。

■同行评价

本文不仅为肿瘤学专业医师提供指导,也为直肠癌患者造口后生活质量评估提供依据。

- 34 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Prospective analysis of quality of life and survival following mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 1617-1622 [PMID: 11736975 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01933.x]
- 35 陈静, 赵嫚, 谢强, 孙玉华, 梁健. 直肠癌手术后患者48例生存质量评定. 世界华人消化杂志 2006; 14: 819-822
- 36 Ramsey SD, Andersen MR, Etzioni R, Moinpour C, Peacock S, Potosky A, Urban N. Quality of life in survivors of colorectal carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 1294-1303 [PMID: 10717609]
- 37 Hamashima C. Long-term quality of life of postoperative rectal cancer patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 571-576 [PMID: 12084031]
- 38 Arndt V, Merx H, Stegmaier C, Ziegler H, Brenner H. Restrictions in quality of life in colorectal cancer patients over three years after diagnosis: a population based study. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1848-1857 [PMID: 16829069 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.059]
- 39 Grundmann R, Said S, Krinke S. [Quality of life after rectal resection or extirpation. A comparison using different measurement parameters]. *Dtsch Med Wochenschr* 1989; 114: 453-457 [PMID: 2924698 DOI: 10.1055/s-2008-1066617]
- 40 Marquis R, Lasry JC, Heppell J, Potvin C, Falardeau M, Robidoux A. [Quality of life of patients after restorative surgery for cancer of the rectum]. *Ann Chir* 1992; 46: 830-838 [PMID: 1299163]
- 41 Krouse RS, Herrinton LJ, Grant M, Wendel CS, Green SB, Mohler MJ, Baldwin CM, McMullen CK, Rawl SM, Matayoshi E, Coons SJ, Hornbrook MC. Health-related quality of life among long-term rectal cancer survivors with an ostomy: manifestations by sex. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4664-4670 [PMID: 19720920 DOI: 10.1200/JCO.2008.20.9502]
- 42 Pérez Lara FJ, Navarro Piñero A, de la Fuente Peruchó A. Study of factors related to quality of life in patients with locally advanced rectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 746-757 [PMID: 15584848 DOI: 10.4321/S1130-01082004001100002]
- 43 Coons SJ, Chongpison Y, Wendel CS, Grant M, Krouse RS. Overall quality of life and difficulty paying for ostomy supplies in the Veterans Affairs ostomy health-related quality of life study: an exploratory analysis. *Med Care* 2007; 45: 891-895 [PMID: 17712260 DOI: 10.1097/MLR.0b013e318074ce9b]
- 44 Holzer B, Matzel K, Schiedeck T, Christiansen J, Christensen P, Rius J, Richter P, Lehur PA, Masin A, Kuzu MA, Hussein A, Oresland T, Roche B, Rosen HR. Do geographic and educational factors influence the quality of life in rectal cancer patients with a permanent colostomy? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2209-2216 [PMID: 16228820 DOI: 10.1007/s10350-005-0194-6]
- 45 刘珊. 护理干预对结直肠癌造口患者生活质量影响的临床研究. 中国实用医药 2009; 4: 188-190
- 46 Shibata D, Guillem JG, Lanouette N, Paty P, Minsky B, Harrison L, Wong WD, Cohen A. Functional and quality-of-life outcomes in patients with rectal cancer after combined modality therapy, intraoperative radiation therapy, and sphincter preservation. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 752-758 [PMID: 10859073]
- 47 路潜, 郭蕾蕾, 王静. 直肠癌结肠造口病人生活质量的研究. 中华护理杂志 2002; 37: 8-11
- 48 郭蕾蕾, 路潜, 王静. 直肠癌结肠造口患者自我护理状况及健康需求的调查. 解放军护理杂志 2006; 23: 26-27
- 49 Camilleri-Brennan J, Steele RJ. Objective assessment of morbidity and quality of life after surgery for low rectal cancer. *Colorectal Dis* 2002; 4: 61-66 [PMID: 12780658]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响

陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 陈敏, 姜德立, 王坤, 王平江, 张建新

陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 王坤, 王平江, 张建新, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001

陈敏, 姜德立, 江苏大学化学化工学院 江苏省镇江市 212013
陈吉祥, 主任医师, 主要从事胰腺疾病及胃肠道肿瘤方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070287

江苏省自然科学基金资助项目, Nos. BK2011044, 2012026

作者贡献分布: 本研究由陈吉祥、刘彬、党胜春、陈敏、姜德立、王坤、王平江及张建新共同完成。

通讯作者: 张建新, 教授, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科, zhangjx@ujs.edu.cn

电话: 0511-85082208 传真: 0511-85082208

收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-21

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis

Ji-Xiang Chen, Bin Liu, Sheng-Chun Dang, Min Chen, De-Li Jiang, Kun Wang, Ping-Jiang Wang, Jian-Xin Zhang

Ji-Xiang Chen, Bin Liu, Sheng-Chun Dang, Kun Wang, Ping-Jiang Wang, Jian-Xin Zhang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Min Chen, De-Li Jiang, School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070287; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, Nos. BK2011044 and 2012026

Correspondence to: Jian-Xin Zhang, Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. zhangjx@ujs.edu.cn

Received: 2013-06-21 Revised: 2013-07-21

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To study the effect of liposomal clodronate on the expression of protein kinase B (Akt) and mitogen-activated protein kinase [MAPK (ERK1/2)] in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis (SAP), and to investigate the mechanism behind the therapeutic effect of liposomal clodronate on SAP-associated intestinal mucosal injury.

METHODS: Liposomal clodronate was prepared by means of thin film. Forty-eight SD rats were randomly divided into a model control group (C), a liposome control group (P), and a liposomal clodronate group (T). SAP was induced in rats of groups P and T by injection of sodium taurocholate under the pancreatic capsule, while group C received equal volume of normal saline. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and AMS were measured 2 and 6 h after SAP induction. Pathological alterations in the intestinal mucosa were observed.

RESULTS: Serum levels of AMS, IL-6 and TNF- α were significantly elevated in group P compared to group C (all $P < 0.01$). Compared with group P, serum levels of AMS, IL-6 and TNF- α were significantly decreased in group T (all $P < 0.01$). Pathological alterations (scores) in the intestinal mucosa were significantly attenuated in group T compared to group P. The expression of Akt and MAPK (ERK1/2) was significantly decreased in group T compared to group P.

CONCLUSION: Macrophages play an important role in the pathogenesis of intestinal mucosal injury in SAP. Macrophages can be depleted via phagocytosis of liposome encapsulated clodronate. Liposomal clodronate alleviates intestinal mucosal injury in SAP rats possibly by decreasing the expression of Akt and MAPK (ERK1/2).

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Liposomal clodronate; Intestinal mucosa injury; Macrophages; Akt; MAPK; ERK1/2

Chen JX, Liu B, Dang SC, Chen M, Jiang DL, Wang K, Wang PJ, Zhang JX. Liposomal clodronate reduces Akt and mitogen-activated protein kinase expression in the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2633-2640

■背景资料

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是普外科常见的急腹症之一,发病机制复杂,病死率高。炎性介质的过度释放引起全身炎症反应,从而导致远端器官发生功能障碍,受到广泛关注。有研究表明约1/3 SAP患者早期并发肠黏膜损伤,目前尚缺乏有效的治疗手段。巨噬细胞在其中发挥着重要作用,其分泌的多种炎性介质及细胞因子促进了炎症反应的发生。本文利用氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC),抑制巨噬细胞功能,减轻肠黏膜损伤,为临床治疗SAP等提供理论依据。

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

■ 研发前沿

目前国内外治疗SAP大都以抗炎、抑制胰酶分泌为主。本研究利用脂质体包裹氯膦酸二钠进入肠黏膜巨噬细胞内发挥作用,诱导巨噬细胞凋亡,阻断了Akt、MAPK的信号传导通路,减少炎性介质的释放,减轻胰腺炎症状,在国内外的研究均不多见。伴随着越来越多的脂质体药物面世,该领域的研究受到广泛关注。

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2633.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2633>

摘要

目的: 研究氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC)对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠肠黏膜蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)和丝裂原活化蛋白激酶1/2[mitogen-activated protein kinase, MAPK(ERK1/2)]活性的影响,探讨LC治疗SAP肠黏膜损伤的保护作用。

方法: 利用薄膜法制备LC。SD大鼠48只,随机分为3组:对照组(C组)、SAP+空白脂质体治疗组(P组)、SAP+Clodronate脂质体治疗组(T组)。P组和T组采用胰腺被膜下均匀注射5%牛磺胆酸钠制作SAP模型后,分别经尾静脉注射空白脂质体和Clodronate脂质体, C组仅注射等量生理盐水。制模后2、6 h分别取肠系膜上静脉血液,检测各组大鼠血清中淀粉酶(amylase, AMS)的含量,同时检测各组大鼠血清中白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的含量,观察各组肠黏膜的病理学变化及病理评分,采用免疫组织化学方法检测肠黏膜巨噬细胞Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况。

结果: P组大鼠在制模后2、6 h的血清AMS水平较C组明显升高($P<0.01$)。与P组比较, T大鼠各时相的血清AMS水平平均显著降低($P<0.01$)。P组较C组2、6 h血清IL-6和TNF- α 明显升高($P<0.01$)。T组各时相较P组血清IL-6和TNF- α 显著降低($P<0.01$)。T组大鼠的肠黏膜病理变化均较P组明显减轻,病理学评分明显降低($P<0.01$)。T组肠黏膜Akt和MAPK(ERK1/2)的表达较P组明显减少。

结论: 巨噬细胞在SAP大鼠肠黏膜损伤中起重要作用, LC可选择性清除巨噬细胞,减少肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)的表达,对肠黏膜损伤有一定的保护作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 肠黏膜损伤; 氯膦酸二钠脂质体; 巨噬细胞; 蛋白激酶B; MAPK(ERK1/2)

核心提示: 本研究表明氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate)能导致巨噬细胞选择性凋亡,减少重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠血清中的炎性介质的产生和释放,减

轻肠黏膜损伤,阻止了SAP多器官损伤的进一步发展。为SAP和SAP并发的肠黏膜损伤提供了新的有价值的治疗策略。同时蛋白激酶B(protein kinase B)和MAPK(ERK1/2)可作为SAP的新的治疗靶点,为SAP的治疗提供新的前景。

陈吉祥, 刘彬, 党胜春, 陈敏, 姜德立, 王坤, 王平江, 张建新. 氯膦酸二钠脂质体对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)活性的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2633-2640 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2633.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2633>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是普外科常见的急腹症之一,病死率高。炎性介质的过度释放引起全身炎症反应,从而导致远处器官发生功能障碍,受到广泛关注^[1]。SAP常诱发肠黏膜损伤,其机制尚未完全阐明。目前的研究表明,肠黏膜损伤是一个复杂的病理生理过程,牵涉到很多因素,如微循环障碍、缺血再灌注损伤、炎症介质的过度释放等^[2,3]。肠黏膜损伤后细菌易位和内毒素释放,可以引起肠源性内毒素血症及继发感染,导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官系统功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),是SAP的严重程度和死亡率的重要影响因素。

近年来的研究已经表明,巨噬细胞在SAP的病程发展中发挥重要的作用,其通过识别受体检测致病物质,继而引发和调节炎症反应^[4]。激活的巨噬细胞可以大量分泌炎症细胞因子[如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-1(interleukin-1, IL-1)],导致SIRS,诱导脂质过氧化反应,损害细胞膜的结构,造成胰腺和其他器官的损伤,并最终导致MODS^[5,6]。目前大多认为肠黏膜屏障损伤后细菌/内毒素易位,过度激活巨噬细胞释放一系列促炎介质和细胞因子(如TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12),诱导细胞因子在全身循环出现第二个高峰。这些过度释放的炎性介质和细胞因子会加重全身炎症反应,并增加死亡率。调节巨噬细胞功能,已成为SAP治疗的主要方向。

氯膦酸二钠(clodronate)是一种人工合成的双磷酸酯, van Rooijen等^[7]研究发现,静脉注射含有氯膦酸二钠的脂质体可以选择性地清除体内巨噬细胞。运用其这一特性,可用于一

些炎症疾病的治疗. 在本研究中, 将氯膦酸二钠脂质体(liposomal clodronate, LC)注入SAP大鼠体内, 观察其对肠黏膜损伤及蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)、MAPK(ERK1/2)活性的影响, 讨论其对SAP大鼠肠黏膜损伤的保护效应.

1 材料和方法

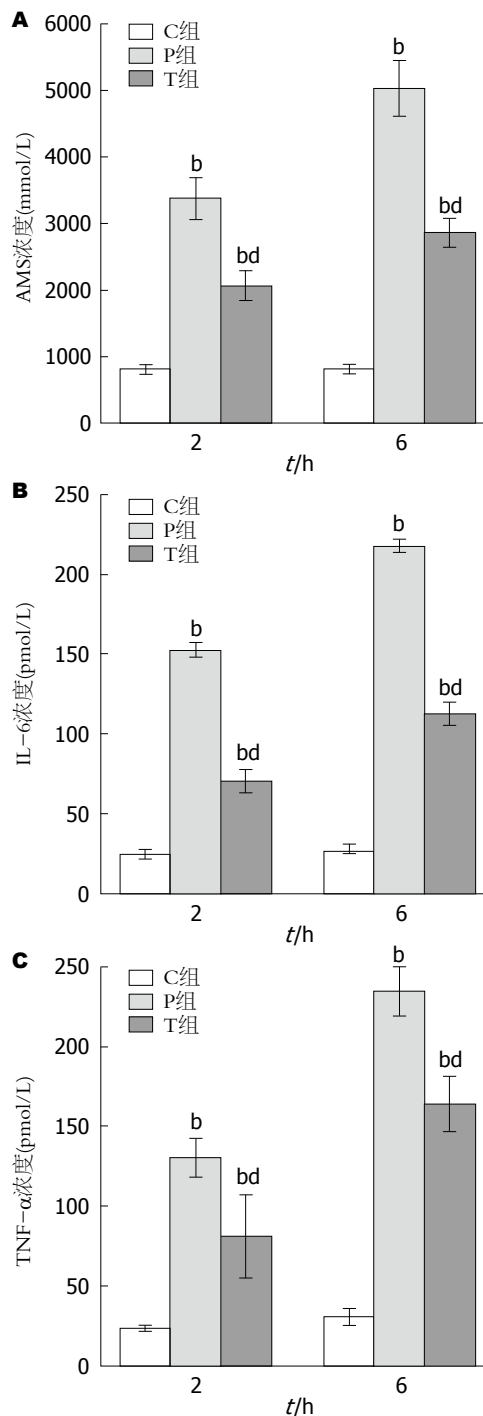
1.1 材料 SD大鼠(体质量350-400 g)由江苏大学动物中心提供; 氯膦酸二钠购自上海伟进生物科技有限公司; 牛磺胆酸钠购自美国Sigma公司; IL-6、TNF- α ELISA试剂盒购自美国Invitrogen公司; p-Akt、p-p44/42 MAPK(ERK1/2)试剂盒购自美国Cell Signaling公司.

1.2 方法

1.2.1 LC的制备: 参照文献[8]制备脂质体的方法加以改进. 获得的4 mL LC悬液大约含有20 mg的氯膦酸二钠. 同法制备空白脂质体. 应用紫外分光光度法测定脂质体中氯膦酸二钠的浓度及包封率, 测定包封率约为6%.

1.2.2 动物分组及处理: 大鼠48只, 随机分为3组: 对照组(C组), SAP+空白脂质体组(P组), SAP+LC组(T组). 各组又分为术后2、6 h组, 每组8只. 大鼠术前12 h禁食, 自由饮水. 按体质量肌肉注射氯胺酮(2 mg/kg)进行麻醉. P组及T组麻醉后参照文献制作SAP模型^[9]; C组予以开腹后胰腺包膜下均匀注射等量生理盐水. P组于造模后立即大鼠尾静脉注射空白脂质体(4 mL/kg); T组于造模后尾静脉注射LC(4 mL/kg); C组予以尾静脉注射生理盐水(4 mL/kg); 注射过程缓慢, 脂质体注射时予以常温下静置3 h, 注射前摇晃均匀. 2、6 h后处死动物.

1.2.3 标本测定: (1)血清淀粉酶(amylase, AMS)含量: 3组分别于制模后2、6 h肠系膜上静脉取血4 mL, 3000 r/min离心10 min, 取上层血清-20 °C保存, 自动生化分析仪测定血清AMS含量; (2)血清IL-6和TNF- α 含量测定: 取上述血清, 严格按照ELISA试剂盒说明测定2、6 h血清IL-6和TNF- α 含量; (3)肠黏膜组织形态学观察: 2、6 h距末端回肠5 cm取回肠组织标本2 cm左右, 4%甲醛溶液固定, 修剪、脱脂、石蜡包埋和切片, 苏木精-伊红(HE)染色, 光镜下观察肠黏膜病理改变, 评分标准见文献[10]; (4)免疫组织化学检测肠黏膜Akt、MAPK(ERK1/2)的表达: 采用链霉素抗生物素蛋白过氧化酶(SP)免疫组织化学方法染色, 兔抗人P-Akt单克隆抗体和兔抗人P-p44/42



■ 相关报道
van Rooijen等报道, 经大鼠尾静脉注射LC, 巨噬细胞通过吞噬作用摄取脂质体, 其磷脂酶破坏脂质体的磷脂双分子层, 药物在细胞内释放从而诱导了巨噬细胞的凋亡, 减轻了炎症反应综合征.

图 1 各组大鼠血清生化检测指标变化. A: 各组大鼠血清AMS变化, ^b $P < 0.01$ vs C组; ^d $P < 0.01$ vs P组; B: 各组大鼠血清IL-6变化, ^b $P < 0.01$ vs C组; ^d $P < 0.01$ vs P组; C: 各组大鼠血清TNF- α 变化, ^b $P < 0.01$ vs C组; ^d $P < 0.01$ vs P组. C组: 对照组; P组: SAP+空白脂质体组; T组: SAP+氯膦酸二钠脂质体组. AMS: 血清淀粉酶; IL: 白介素; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; SAP: 重症急性胰腺炎.

MAPK(ERK1/2)单克隆抗体购于Cell Signaling公司, 工作浓度为1:200. 操作过程按照试剂盒说明书进行.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析, 所有数据均用mean \pm SD表示, 采用

■ 创新盘点

本研究通过脂质体包裹特异性巨噬细胞清除剂氯膦酸二钠来抑制巨噬细胞功能, 阻断了Akt、MAPK的信号传导通路, 从巨噬细胞增殖、凋亡及巨噬细胞分泌自由基、炎性介质等方面入手研究, 为临床治疗SAP及多器官功能损伤等提供新的理论依据。

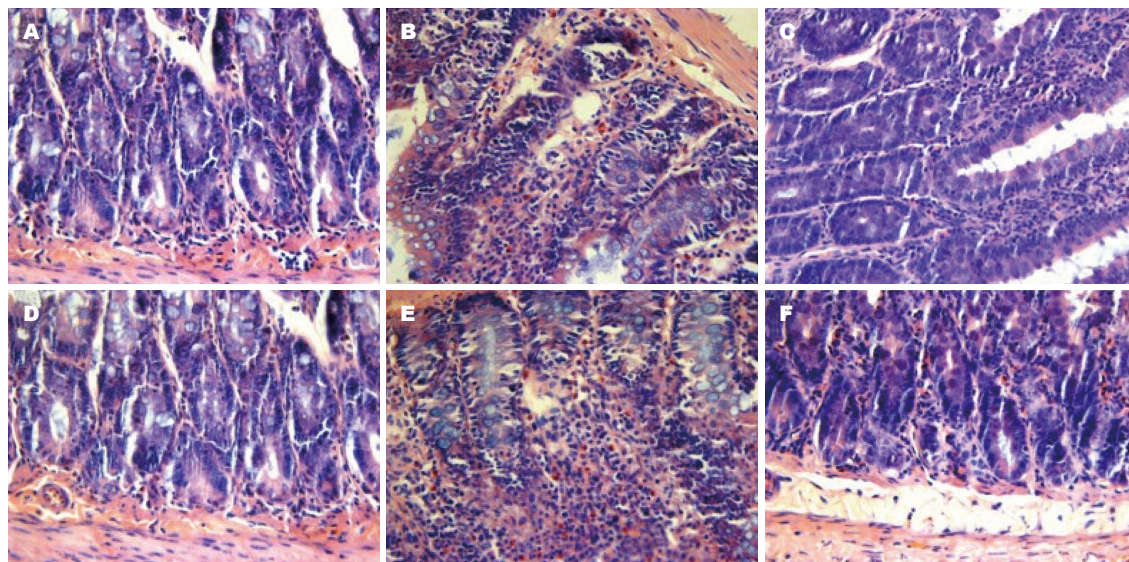


图2 光镜下回肠组织病理变化($\times 200$)。A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h。SAP: 重症急性胰腺炎。

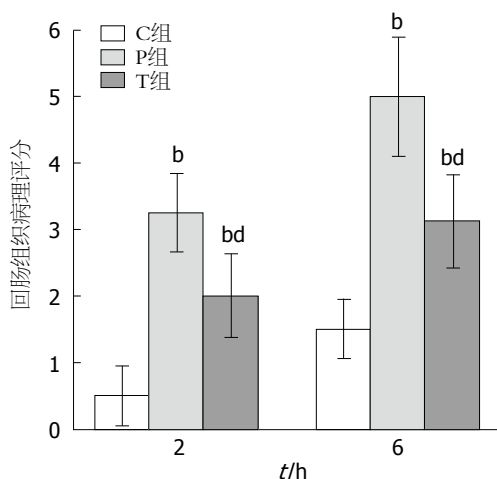


图3 回肠组织病理评分变化。^b $P < 0.01$ vs C组; ^d $P < 0.01$ vs P组。C组: 对照组; P组: SAP+空白脂质体组; T组: SAP+氯膦酸二钠脂质体组。SAP: 重症急性胰腺炎。

ANOVA程序进行单因素方差分析, 方差不齐采用Kruskal-Wallis检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LC预处理对SAP大鼠血清AMS的影响 和C组比较, P组和T组血清AMS含量在2、6 h明显升高。T组各时相血清AMS含量较P组显著降低($P < 0.01$)(图1A)。

2.2 LC预处理对SAP大鼠血清IL-6和TNF- α 的影响 SAP大鼠模型诱导成功后, P组2、6 h血清IL-6和TNF- α 浓度较C组明显升高($P < 0.01$), 和P组比较, T组各时相血清IL-6和TNF- α 浓度显著下降($P < 0.01$)(图1B, C)。

2.3 肠黏膜的大体及微观病理变化

2.3.1 肠黏膜组织病理学检查: C组肠黏膜完整, 无炎性细胞浸润及出血现象。P组2 h肠黏膜轻度水肿伴炎性细胞浸润, 部分绒毛坏死脱落; 6 h组出现黏膜层及黏膜下层明显充血水肿, 大量炎性细胞浸润, 固有层绒毛脱落, 片状坏死。T组各时相肠黏膜损伤较P组明显减轻(图2)。

2.3.2 各组肠黏膜病理评分: 在P和T组与C组相比存在显著性差异($P < 0.01$)。T组较P组明显好转($P < 0.01$)(图3)。

2.4 免疫组织化学检测肠黏膜Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况 Akt的表达定位于细胞质, 呈棕黄色颗粒状, 与C组比较, P组和T组的Akt表达明显增多, T组较P组的表达明显减少。MAPK(ERK1/2)的表达主要定位于细胞质, 呈淡黄色颗粒状, P组和T组的MAPK(ERK1/2)表达较C组明显增多, 与P组比较, T组的表达明显减少(图4, 5)。

3 讨论

SAP容易诱发SIRS和MODS, 其死亡率为15%-30%, 仍是临床上难以攻克疾病之一^[11]。氧自由基和多种炎症介质的大量释放是SAP从胰腺局部的炎症向全身性炎症发展的主要因素^[12]。SAP患者及动物模型血浆中, 存在大量炎症介质和细胞因子, 包括TNF- α 、IL-1和IL-6等, 通过产生级联瀑布效应, 造成全身多个脏器的损伤^[13]。多项研究表明, SAP常并发肠黏膜损伤, 并且发生在1/3患者的病程早期, 在此阶段巨噬细胞被激活, 释放大量的炎性介质

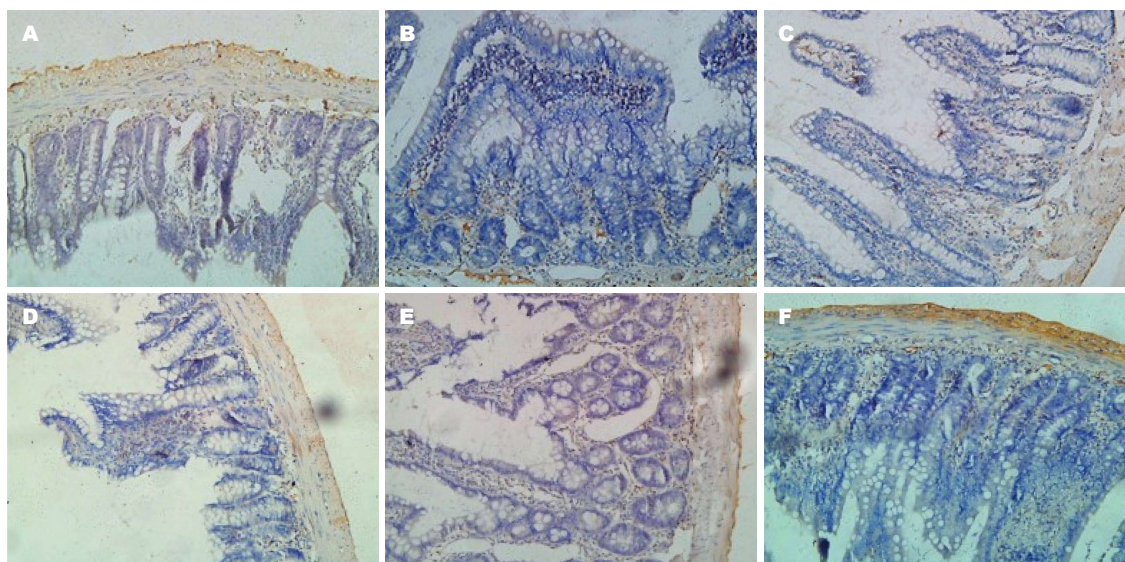


图 4 Akt在回肠组织中的表达($\times 200$)。A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h。SAP: 重症急性胰腺炎。

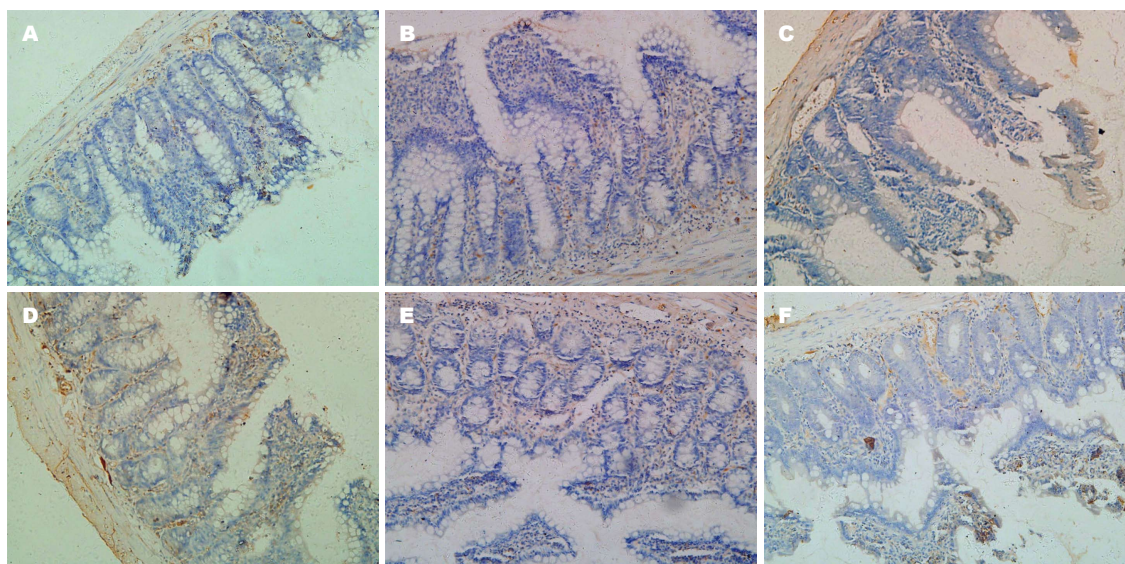


图 5 MAPK(ERK1/2)在回肠组织中的表达($\times 200$)。A: 对照组2 h; B: SAP+空白脂质体治疗组2 h; C: SAP+Clodronate脂质体治疗组2 h; D: 对照组6 h; E: SAP+空白脂质体治疗组6 h; F: SAP+Clodronate脂质体治疗组6 h。SAP: 重症急性胰腺炎。

■应用要点

国外目前已有多种脂质体药物面世(如紫杉醇脂质体等),其应用价值已经得到了业内人士的好评。本研究从一个新的方面着手治疗SAP及并发肠黏膜损伤。

和细胞因子,肠黏膜屏障功能被破坏,通透性增加,管腔细菌移位,引起炎症反应,最终导致MODS^[14,15]。

巨噬细胞的浸润和活化不但是SAP发生的始动因素,而且是导致MODS的一个重要的病理生理过程^[16,17]。巨噬细胞来源的促炎细胞因子(IL-1、IL-6和TNF- α 等)发挥了至关重要的作用,他们促进炎症的扩散,增强中性粒细胞弹性蛋白酶的活性,产生自由基,破坏内皮细胞,引起内皮肿胀和循环淤滞。炎性细胞因子和抗炎细胞因子的自稳失衡是SAP病程进展的关键因素^[18-20]。然而,正常的肠黏膜储存着大量的巨噬细胞,在

SAP病程中,其被大量激活,通过以上机制诱发肠黏膜损伤。通过抑制巨噬细胞的活化,可在一定程度上减轻胰腺及其他组织、脏器的病理损害并改善预后。

氯膦酸二钠临床上常被用于治疗骨质疏松等疾病。其主要机制是形成有毒的ATP类似物,诱导破骨细胞凋亡,从而减少破骨细胞对骨质的吸收^[21]。当注入体内的LC被巨噬细胞吞噬后,导致巨噬细胞选择性凋亡^[22]。在体循环中,游离的氯膦酸二钠有一个很短的半衰期,不能渗透细胞,也不会对巨噬细胞以外的细胞产生影响^[23]。

■同行评价

本文选题新颖, 研究方法科学, 内容详实, 结论客观, 写作规范, 可读性好. 为SAP及其肠黏膜损伤的治疗提供了实验依据和新的思路.

Akt, 又称蛋白激酶B是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 在巨噬细胞的增殖、分化中起重要作用. 细胞因子介导的Akt活化, 通常是通过磷酸肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI-3K)途径实现的. PI-3K/Akt通路通过抑制凋亡蛋白的活性和炎性介质激活发挥抗细胞凋亡作用^[24]. Akt的Ser473位点被磷酸肌醇依赖激酶1磷酸化, 激活PI-3K/Akt通路的核心蛋白Akt, 进而促进巨噬细胞增殖、分化^[25,26]. MAPKs又称丝裂素活化的蛋白激酶, 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 由ERK1/2、p38和c-Jun-N-末端激酶组成, 是连接细胞内和细胞外调节蛋白信号通路的重要组成部分, 负责将细胞外的刺激信号传递给细胞核^[27]. 细胞外刺激信号通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化而激活MAPKs^[28]. MAPKs的家族成员ERK1/2和p38 MAPK活化后, 参与巨噬细胞的增殖, 促进炎性介质及细胞因子的产生, MAPK(ERK1/2)和Akt的活化是巨噬细胞中信号转导的一个标志, 检测活化的MAPK(ERK1/2)和Akt水平可反应炎症的程度^[29-31]. Akt和MAPK(ERK1/2)在一些炎症反应中的机制也得到许多学者的关注. 有研究表明, 脂多糖诱导的腹腔巨噬细胞活化后, 通过其共同的抑制剂可阻断PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路, 能够下调Akt和MAPK(ERK1/2)的表达, 减少IL-1 β 和IL-6等细胞因子的产生, 减轻炎症反应及组织病理损害, 改善疾病预后^[32]. 因此, 为了进一步确认LC减轻肠黏膜损伤的机制, 我们运用LC干预巨噬细胞前后, 采用免疫组织化学的方法, 观察SAP大鼠肠黏膜巨噬细胞Akt和MAPK(ERK1/2)的表达情况. 与C组相比, P组Akt和MAPK(ERK1/2)的表达增多, 提示Akt和MAPK(ERK1/2)在SAP大鼠发病过程中发挥着重要作用, 可能通过激活PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路, 上调Akt和MAPK(ERK1/2)的表达, 促进巨噬细胞增殖, 产生TNF- α 、IL-6、IL-12等炎性细胞因子, 加重了SAP的发展. T组较P组Akt和MAPK(ERK1/2)的表达明显减少, 表明LC可能参与抑制PI-3K/Akt和MAPK-ERK1/2信号通路, 进而抑制Akt和MAPK(ERK1/2)的活化, 下调其表达, 减轻炎症反应.

本实验检测了SAP大鼠肠黏膜组织中Akt和MAPK(ERK1/2)的活性及AMS、IL-6、IL-12和TNF- α 的水平变化, 反映了给予LC治疗前后, 肠黏膜损伤后Akt和MAPK(ERK1/2)的活性及

AMS、IL-6、IL-12和TNF- α 水平的变化. 结果显示, 给予LC治疗后, 血清IL-6、IL-12和TNF- α 水平的明显下降. AMS含量明显降低. 胰腺及肠黏膜的病理损害显著减轻, 病理评分明显降低. 本研究表明LC能导致巨噬细胞选择性凋亡, 减少SAP大鼠血清中的炎性介质及细胞因子的产生和释放, 减轻肠黏膜炎症反应, 阻止了SAP多器官损伤的进一步发展, 从而改善SAP的预后. 为SAP和SAP并发的肠黏膜损伤提供了新的有价值的治疗策略. 同时Akt和MAPK(ERK1/2)可作为SAP的新的治疗靶点, 为SAP的治疗提供新的前景.

4 参考文献

- 1 Singh VK, Wu BU, Bollen TL, Repas K, Maurer R, Morteale KJ, Banks PA. Early systemic inflammatory response syndrome is associated with severe acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1247-1251 [PMID: 19686869 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.08.012]
- 2 Rahman SH, Ammori BJ, Holmfield J, Larvin M, McMahon MJ. Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 26-35; discussion 35-36 [PMID: 12559182 DOI: 10.1016/S1091-255X(02)00090-2]
- 3 Xiping Z, Hua T, Hanqing C, Li C, Binyan Y, Jing M. Effects of Baicalin on inflammatory mediators and pancreatic acinar cell apoptosis in rats with severe acute pancreatitis. *J Res Med Sci* 2009; 14: 19-27 [PMID: 21772857]
- 4 Akbarshahi H, Menzel M, Posaric Bauden M, Rosendahl A, Andersson R. Enrichment of murine CD68+ CCR2+ and CD68+ CD206+ lung macrophages in acute pancreatitis-associated acute lung injury. *PLoS One* 2012; 7: e42654 [PMID: 23110041 DOI: 10.1371/journal.pone.0042654]
- 5 Gutierrez PT, Folch-Puy E, Bulbena O, Closa D. Oxidised lipids present in ascitic fluid interfere with the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response. *Gut* 2008; 57: 642-648 [PMID: 18203805 DOI: 10.1136/gut.2007.127472]
- 6 Mikami Y, Takeda K, Shibuya K, Qiu-Feng H, Shimamura H, Yamauchi J, Egawa S, Sunamura M, Yagi H, Endo Y, Matsuno S. Do peritoneal macrophages play an essential role in the progression of acute pancreatitis in rats? *Pancreas* 2003; 27: 253-260 [PMID: 14508132 DOI: 10.1097/00006676-200310000-00011]
- 7 van Rooijen N, Sanders A, van den Berg TK. Apoptosis of macrophages induced by liposome-mediated intracellular delivery of clodronate and propamidine. *J Immunol Methods* 1996; 193: 93-99 [PMID: 8690935 DOI: 10.1016/0022-1759(96)00056-7]
- 8 van Rooijen N, van Kesteren-Hendrikx E. "In vivo" depletion of macrophages by liposome-mediated "suicide". *Methods Enzymol* 2003; 373: 3-16 [PMID: 14714393 DOI: 10.1016/S0076-6879(03)73001-8]
- 9 Zhang JX, Dang SC, Qu JG, Wang XQ. Preventive effect of tetramethylpyrazine on intestinal mucosal

- injury in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6386-6390 [PMID: 17072967]
- 10 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]
 - 11 Merza M, Wetterholm E, Zhang S, Regner S, Thorlacius H. Inhibition of geranylgeranyltransferase attenuates neutrophil accumulation and tissue injury in severe acute pancreatitis. *J Leukoc Biol* 2013; 94: 493-502 [PMID: 23744643 DOI: 10.1189/jlb.1112546]
 - 12 Lima PR, de Melo TS, Carvalho KM, de Oliveira ÍB, Arruda BR, de Castro Brito GA, Rao VS, Santos FA. 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and NF- κ B activity in mice. *Life Sci* 2013; 92: 1195-1201 [PMID: 23702424 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.05.009]
 - 13 Kimura Y, Hirota M, Okabe A, Inoue K, Kuwata K, Ohmuraya M, Ogawa M. Dynamic aspects of granulocyte activation in rat severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2003; 27: 127-132 [PMID: 12883260 DOI: 10.1097/00006676-200308000-00004]
 - 14 Rychter JW, van Minnen LP, Verheem A, Timmerman HM, Rijkers GT, Schipper ME, Gooszen HG, Akkermans LM, Kroese AB. Pretreatment but not treatment with probiotics abolishes mouse intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis. *Surgery* 2009; 145: 157-167 [PMID: 19167970 DOI: 10.1016/j.surg.2008.09.011]
 - 15 Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]
 - 16 Khomiak IV. [Ultrastructural peculiarities of mononuclear macrophages of the demarcation zone in an acute necrotic pancreatitis and elaborating of methods for the disease course prognosis and treatment]. *Klin Khir* 2012; (5): 27-31 [PMID: 22888547]
 - 17 Saeki K, Kanai T, Nakano M, Nakamura Y, Miyata N, Sujino T, Yamagishi Y, Ebinuma H, Takaishi H, Ono Y, Takeda K, Hozawa S, Yoshimura A, Hibi T. CCL2-induced migration and SOCS3-mediated activation of macrophages are involved in cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2012; 142: 1010-1020. e9 [PMID: 22248664 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.054]
 - 18 Ukhanova Iu, Karaulov AV, Konoplia AI, Loktionov AL, Suniaikina OA. [Functional activity of peritoneal macrophages in acute destructive pancreatitis: evaluation, implication]. *Klin Lab Diagn* 2011; (6): 42-44 [PMID: 21851011]
 - 19 Shrivastava P, Bhatia M. Essential role of monocytes and macrophages in the progression of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3995-4002 [PMID: 20731012 DOI: 10.3748/wjg.v16.i32.3995]
 - 20 Sailai Y, Yu X, Baiheti P, Tang H, Li Y, Xu M. Influence of nuclear factor kappaB activation on inflammatory mediators of alveolar macrophages in rats with acute necrotizing pancreatitis. *J Investig Med* 2010; 58: 38-42 [PMID: 19730128 DOI: 10.231/JIM.0b013e3181b91bd6]
 - 21 Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999; 25: 97-106 [PMID: 10423031 DOI: 10.1016/S8756-3282(99)00116-7]
 - 22 Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000; 88: 2961-2978 [PMID: 10898340 DOI: 10.1002/1097-0142(20000615)88:12+<2961::AID-CNCR12>3.0.CO;2-L]
 - 23 Van Rooijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. *J Immunol Methods* 1994; 174: 83-93 [PMID: 8083541 DOI: 10.1016/0022-1759(94)90012-4]
 - 24 Song ZF, Chen DY, DU B, Ji XP. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor reduces heart ischaemia/reperfusion injury via inflammation and Akt signalling in rats. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 1913-1917 [PMID: 23673109]
 - 25 Minhajuddin M, Bijli KM, Fazal F, Sassano A, Nakayama KI, Hay N, Platanius LC, Rahman A. Protein kinase C-delta and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activate mammalian target of rapamycin to modulate NF-kappaB activation and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in endothelial cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 4052-4061 [PMID: 19074768 DOI: 10.1074/jbc.M805032200]
 - 26 Marchbank T, Mahmood A, Playford RJ. Pancreatic secretory trypsin inhibitor causes autocrine-mediated migration and invasion in bladder cancer and phosphorylates the EGF receptor, Akt2 and Akt3, and ERK1 and ERK2. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305: F382-F389 [PMID: 23698120 DOI: 10.1152/ajprenal.00357.2012]
 - 27 Feng Z, Fei J, Wenjian X, Jiachen J, Beina J, Zhonghua C, Xiangyi Y, Shaoying W. Rhubarb attenuates the severity of acute necrotizing pancreatitis by inhibiting MAPKs in rats. *Immunotherapy* 2012; 4: 1817-1821 [PMID: 23240749 DOI: 10.2217/imt.12.131]
 - 28 Wei S, Huang Q, Li J, Liu Z, You H, Chen Y, Gong J. Taurine attenuates liver injury by downregulating phosphorylated p38 MAPK of Kupffer cells in rats with severe acute pancreatitis. *Inflammation* 2012; 35: 690-701 [PMID: 21833764 DOI: 10.1007/s10753-011-9362-0]
 - 29 Park HY, Han MH, Park C, Jin CY, Kim GY, Choi IW, Kim ND, Nam TJ, Kwon TK, Choi YH. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- κ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 1745-1752 [PMID: 21570441 DOI: 10.1016/j.fct.2011.04.020]
 - 30 Zhu R, Huang YH, Tao Y, Wang SC, Sun Ch, Piao HL, Wang XQ, Du MR, Li DJ. Hyaluronan up-regulates growth and invasion of trophoblasts in an autocrine manner via PI3K/AKT and MAPK/ERK1/2 pathways in early human pregnancy. *Placenta* 2013; 34: 784-791 [PMID: 23806178 DOI: 10.1016/j.placenta.2013.05.009]
 - 31 Jang SE, Hyam SR, Han MJ, Kim SY, Lee BG, Kim DH. Lactobacillus brevis G-101 ameliorates colitis in mice by inhibiting NF- κ B, MAPK and AKT pathways and by polarizing M1 macrophages to M2-like

- macrophages. *J Appl Microbiol* 2013; 115: 888-896 [PMID: 23742179 DOI: 10.1111/jam.12273]
- 32 Park SY, Park GY, Ko WS, Kim Y. Dichroa febrifuga Lour. inhibits the production of IL-1 β

and IL-6 through blocking NF-kappaB, MAPK and Akt activation in macrophages. *J Ethnopharmacol* 2009; 125: 246-251 [PMID: 19607899 DOI: 10.1016/j.jep.2009.07.003]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF- κ B表达的关系

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩, 贵阳医学院病理学教研室 贵州省贵阳市 550004

裴媛媛, 住院医师, 主要从事肿瘤病理学的研究.

贵州省社会发展攻关项目基金资助项目, No. 黔科合SY[2010]3054号

作者贡献分布: 此课题由杨文秀、裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩共同设计完成; 研究过程由裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩操作完成; 研究所用试剂由杨文秀提供; 数据分析由裴媛媛、陈琴及李品浩完成; 本论文写作由杨文秀与裴媛媛共同完成.

通讯作者: 杨文秀, 教授, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路9号, 贵阳医学院病理学教研室. ypq1964@163.com

收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Correlation between expression of CARMA1 and NF- κ B proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li, Department of Pathology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2010]3054

Correspondence to: Wen-Xiu Yang, Professor, Department of Pathology, Guiyang Medical College, 9 Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. ypq1964@163.com

Received: 2013-05-06 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the expression of CARMA1 and nuclear factor κ B (NF- κ B) proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma.

METHODS: Fifty-four specimens of lymphomas, including 34 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and 20 cases of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, and 21 specimens of gastrointestinal reactive lymphoid hyperplasia (GRLH) were selected for H&E staining and immunohistochemical staining. The mRNA and protein expression of

CARMA1 was detected by Real-time PCR and immunohistochemistry, respectively. Expression of NF- κ B proteins was assayed by immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rates of CARMA1, NF- κ B/p65 and NF- κ B/p50 proteins were significantly higher in lymphomas than in GRLH (75.9% vs 47.6%, 48.2% vs 14.3%, 38.9% vs 9.5%; $P = 0.042, 0.007, 0.013$). The expression levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in DLBCL than in MALT lymphoma ($P = 0.019, 0.020$). There were significant differences in CARMA1 protein expression between lymphomas which were positive and negative for NF- κ B/p65 or NF- κ B/p50 (84.6% vs 67.9%, 71.4% vs 78.8%, $P = 0.030, 0.031$). CARMA1 mRNA expression was significantly higher in advanced cases than in early disease ($P = 0.011$). Expression of CARMA1 protein was significantly higher in cases which infiltrated through the wall than in those which did not (91.7% vs 66.7%, $P = 0.003$). The levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in cases with a high proliferation rate ($P = 0.035, 0.006$). Expression of NF- κ B/p65 and NF- κ B/p50 proteins was obviously increased in cases with a later TNM stage or a high proliferation rate ($P = 0.015, 0.05, 0.018, 0.001$). The type of lymphoma, stage, CARMA1 and NF- κ B/p65 protein expression were independent factors affecting the prognosis of lymphomas. Survival was poor in cases with strong expression of CARMA1 protein than in those without ($P = 0.02$).

CONCLUSION: Expression of CARMA1 was correlated with that of NF- κ B in gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL. CARMA1 expression may induce activation of NF- κ B and thereby participate in the pathogenesis and progression of gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lymphoma; CARMA1; Nuclear factor- κ B

■背景资料

弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)和黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)是常见的B细胞淋巴瘤类型. 惰性发展的MALT淋巴瘤有一部分可以转化为侵袭性的DLBCL. MALT淋巴瘤的发生和向大细胞淋巴瘤转化的过程及其机制目前还不清楚, 有研究表明NF- κ B信号通路的激活和MALT淋巴瘤的发生和发展机制密切相关.

■同行评议者

陈云昭, 副教授, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 新疆石河子大学医学院/一附院病理科

■研究前沿

含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员。研究报道CARMA1蛋白阳性表达率在不伴有低恶性MALT淋巴瘤成分的DLBCL病例中表达较高,推测CARMA1与淋巴瘤的发生和高恶性转化有关。CARMA1表达是否通过激活NF- κ B通路参与MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展,有待进一步研究。

Pei YY, Yang WX, Meng Q, Chen Q, Li PH. Correlation between expression of CARMA1 and NF- κ B proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2641-2648 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641>

摘要

目的: 了解胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)表达与核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)表达的关系及其对淋巴瘤的影响。

方法: 筛选54例胃肠B细胞淋巴瘤,其中弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)34例、黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)20例及21例胃肠淋巴组织反应性增生病例。Real-time PCR检测CARMA1 mRNA,免疫组织化学染色检测肿瘤细胞的CARMA1、NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达。

结果: CARMA1、NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达率在淋巴瘤组较淋巴组织反应性增生组病例明显增高(淋巴瘤:淋巴组织反应性增生CARMA1为75.9% : 47.6%, NF- κ B/p65为48.2% : 14.3%, NF- κ B/p50为38.9% : 9.5%, $P = 0.042, 0.007, 0.013$)。与MALT淋巴瘤比较,DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达(DLBCL : MALT淋巴瘤CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 为3.073 : 1, CARMA1蛋白为88.2% : 55.0%), P 值为0.019和0.020。CARMA1蛋白表达与NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白核表达有正相关关系(NF- κ B/p65阴性组 : 阳性组为67.9% : 84.6%, NF- κ B/p50阴性组 : 阳性组为78.8% : 71.4%), P 值分别为0.030和0.031。CARMA1 mRNA在晚分期(Ⅲ和Ⅳ期)病例中表达水平高于早分期(Ⅰ和Ⅱ期)病例(晚分期 : 早分期CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct} = 4.416 : 1$), $P = 0.011$,在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(管壁内 : 管壁外66.7% : 91.7%), $P = 0.003$ 。肿瘤细胞高增殖活性病例中CARMA1 mRNA和蛋白表达都显著升高(高增殖活性 : 低增殖活性CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2.885 : 1$ CARMA1蛋白为88.6% : 52.6%), P 值分别为0.035, 0.006。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例(晚分期 : 早分

期NF- κ B/p65为68.2% : 34.4%, NF- κ B/p50为54.5% : 28.1%,高增殖活性 : 低增殖活性NF- κ B/p65为60.0% : 26.3%, NF- κ B/p50为51.4% : 15.8%), P 值分别为0.015和0.05, 0.018和0.001。生存分析:淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因子,4种因素的相对风险度接近。CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P 值为0.020, 0.045)。

结论: 胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL中NF- κ B持续活化可能与CARMA1蛋白高表达相关,推测CARMA1高表达通过活化NF- κ B参与相关淋巴瘤的发生发展过程。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 淋巴瘤; CARMA1; 核因子 κ B

核心提示: 本研究发现胃肠道黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue)淋巴瘤和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma)中核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关,但随着CARMA1蛋白表达增加而增强。且发现CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50的表达对上述淋巴瘤的临床病理特征有一定的影响。

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩. 胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF- κ B表达的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2641-2648 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641>

0 引言

目前研究认为肿瘤细胞生存的关键取决于核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)的持续活化。研究报道淋巴瘤中也存在NF- κ B的持续活化^[1,2]。黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)是常见的胃肠道B细胞淋巴瘤类型。含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员。研究报道^[3-10]CARMA1作为衔接蛋白,

与B细胞淋巴瘤10(B cell lymphoma 10, BCL10)及黏膜相关淋巴瘤易位基因1(mucosa-associated lymphoma translocation gene 1, MALT1)形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 可活化NF- κ B. 本研究就CARMA1表达与NF- κ B蛋白的关系进行分析, 进一步研究MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 收集贵阳医学院附属医院病理科1999-01/2011-03诊断的胃肠道B细胞非霍奇金淋巴瘤. 通过HE切片复习及肿瘤细胞免疫表型检查, 按照2008年WHO淋巴造血组织肿瘤分类^[1]筛选出54例具有完整病理和临床资料的病例(包括34例DLBCL和20例MALT淋巴瘤), 其中I期17例, II期15例, III期6例, IV期16例. 同时收集21例胃肠淋巴瘤组织反应性增生病例做对照研究. 淋巴瘤的分期参照修改的Ann arbor分期. 多克隆一抗CARMA1购自美国BETHYL; NF- κ B/p65、NF- κ B/p50购自Santa Cruz; 免疫组织化学检测试剂盒购自中杉金桥公司; 二乙基焦磷酸胺(DEPC)、蛋白酶K购自Sigma公司; TRIzol、dNTP、RNA酶抑制剂购自TIANGEN公司; AMV逆转录酶、SYBR Premix Ex Taq购自Takara; 三羟甲基氨基甲烷(Tris碱)、十二烷基硫酸钠(SDS)及乙二胺四乙酸二钠(EDTA)购自上海申博化工有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 采用SP三步法, 据抗体要求进行枸橼酸盐或高pH的EDTA缓冲液进行抗原热修复. 一抗包括: NF- κ B/p65(1:100)、多克隆抗体CARMA1(1:400)、NF- κ B/p50(1:100). 以pH7.4的PBS代替一抗作空白对照, 并以胃肠淋巴瘤组织反应性增生病例做CARMA1、NF- κ B/p65及NF- κ B/p50标记的实验对照. 结果判断: CARMA1、NF- κ B/p65及NF- κ B/p50阳性信号定位于细胞浆和/或细胞核. CARMA1蛋白每张切片观察10个400倍视野, 计数棕黄色细胞数占细胞总数的均值, 低于20%记为阴性, 20%-49%的肿瘤细胞阳性记为阳性, 50%及以上的肿瘤细胞阳性计为强阳性. NF- κ B蛋白阳性信号定位于细胞核是其活化状态的标志, 因此以出现细胞核内表达统计分析NF- κ B的表达情况.

1.2.2 CARMA1 mRNA的检测: (1)石蜡组织中RNA提取: 据参考文献[12]并改进, 实验用

品均经DEPC水或180℃高温烘烤灭活RNA酶. 切5 μ m厚石蜡切片, 据组织大小选取石蜡组织切片10-15片, 二甲苯脱蜡、无水乙醇清洗并干燥; 加入裂解缓冲液及蛋白酶K(终浓度为400-500 μ g/mL), 震荡并在55℃过夜消化组织; 加入TRIzol, 室温孵育后加入氯仿分离RNA; 吸取水相在-20℃以异丙醇沉淀RNA, 乙醇洗涤后以0.1%DEPC消毒水溶解RNA, 测定浓度后-85℃冻存备用; (2)Real-time PCR检测: RT-PCR: 取总RNA 2 μ g用AMV逆转录酶转录合成cDNA, 逆转录体系及条件按说明书进行. Real-time PCR扩增体系: 照SYBR Premix Ex Taq试剂盒进行. 根据CARMA1 mRNA基因序列设计引物, 引物序列如下: 上游引物为5'-CCATCACCAACTCCTTCAC-3'; 下游引物5'-TCCTCCTTG TAGCGTCTG-3', 产物长短112 bp. 以GAPDH为内对照, 引物序列如下: 上游引物为5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGG-3', 下游引物为5'-CCTGGAAGATGGTGATGGA-3', 产物长短225 bp. 扩增条件: 50℃ 2 min, 95℃ 10 min预变性, 95℃ 15 s变性, 60℃ 1 min, 循环40次. Stepone实时荧光定量PCR仪采集待测CARMA1基因及内参照GAPDH扩增荧光信号. 分析其 Δ Ct、 $\Delta\Delta$ Ct值、相对定量(relative quantity, RQ)值, RQ值 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

1.2.3 随访: 采用电话随访和信访, 以患者初次住院为随访开始时间, 以2011-11为随访结束时间.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行分析. 等级资料采用秩和检验, 计量资料采用独立样本t检验, 生存分析采用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, 生存曲线的比较采用对数秩检验(Log-rank test), 影响生存的多种因子分析采用Cox回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CARMA1、NF- κ B表达情况及其相互关系 42例胃肠淋巴瘤全部检测出GAPDH mRNA表达, 提示提取的RNA可以满足检测CARMA1 mRNA的需要. CARMA1 mRNA与蛋白表达一致($2^{-\Delta\Delta Ct} = 2.739$, $P = 0.046$), 且在DLBCL中CARMA1 mRNA表达显著高于MALT淋巴瘤($P = 0.019$), CARMA1蛋白表达(图1): 淋巴瘤组75.9%(强阳性12/54, 阳性29/54), 胃肠淋巴瘤组织反应性增生组47.6%(强阳性3/21, 阳性7/21), 两组病例之间CARMA1蛋白表达具有统计学差异($P = 0.042$); NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白胞核

■ 相关报道

NF- κ B异常持续活化是DLBCL, 尤其是ABC型DLBCL的重要特征之一, 这一特点越来越受到广泛的关注. 有研究发现: DLBCL中存在CARMA1基因的突变和表达异常. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜, 并导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10结合, 并自身寡聚化, 形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 信号最终汇集于I κ BK复合物, 降解I κ B从而调节NF- κ B. CARMA1是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员, 抑制CARMA1可能抑制肿瘤中NF- κ B通路的异常活化. 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标.

■创新盘点

本研究发现胃肠道MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1, NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达率显著高于淋巴组织反应性增生组病例。CARMA1 mRNA和蛋白表达与淋巴瘤类型、临床分期、浸润深度、肿瘤细胞增殖活性相关。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例。NF- κ B蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关,但随着CARMA1蛋白表达增加而增强。生存分析发现淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因素。CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达的相应病例差。

表1 NF- κ B蛋白表达与CARMA1表达的关系

	<i>n</i>	NF- κ B/p65蛋白		<i>P</i> 值	NF- κ B/p50		<i>P</i> 值
		阴性	阳性		阴性	阳性	
CARMA1蛋白	54			0.030			0.031
阴性		9	4		7	6	
阳性		16	13		25	4	
强阳性		3	9		1	11	
CARMA1 mRNA	42			0.694			0.862
Δ Ct mean \pm SD		3.574 \pm 1.850	3.09 \pm 1.724		3.519 \pm 1.956	3.206 \pm 1.620	
$2^{-\Delta\Delta Ct}$		1	1.393		1	1.243	

NF- κ B: 核因子 κ B。

表2 CARMA1及NF- κ B表达与胃肠道MALT淋巴瘤及DLBCL病理特征关系

参数	CARMA1蛋白			CARMA1 mRNA		NF- κ B/p65		NF- κ B/p50	
	<i>n</i> = 54			<i>n</i> = 42		<i>n</i> = 54		<i>n</i> = 54	
	阴性	阳性	强阳性	Δ Ct(mean \pm SD)	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	核阴	核阳	核阴	核阳
淋巴瘤类型									
MALToma	9	8	3	4.105 \pm 1.745	1	13	7	13	7
DLBCL	4	21	9	2.485 \pm 1.333	3.073	15	19	20	14
临床分期									
I和II	7	21	4	4.400 \pm 1.650	1	21	11	23	9
III和IV	6	8	8	2.291 \pm 1.118	4.416	7	15	10	12
Ki-67									
$\leq 40\%$	9	8	2	4.096 \pm 1.766	1	14	5	16	3
$> 40\%$	4	21	10	2.568 \pm 1.385	2.885	14	21	17	18
淋巴结累及(<i>n</i> = 42)									
无	3	7	4	3.049 \pm 1.763	1	9	5	11	3
有	8	14	6	3.566 \pm 1.715	0.700	11	17	12	16
浸润深度(<i>n</i> = 42)									
管壁内	10	17	3	3.338 \pm 1.703	1	17	13	19	11
管壁外	1	4	7	3.405 \pm 1.906	0.955	3	9	4	8

NF- κ B: 核因子 κ B; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤。

或核浆阳性率依次为: 淋巴瘤组48.2%(26/54)、38.9%(21/54), 胃肠淋巴组织反应性增生组14.3%(3/21)、9.5%(2/21)。两种蛋白表达在两组病例之间均有统计学差异(*P*值分别为0.007, 0.013, 表1)。

2.2 CARMA1和NF- κ B表达对淋巴瘤临床病理特征的影响 CARMA1和NF- κ B表达对淋巴瘤临床病理特征的影响如表2所示。

2.3 随访 54例淋巴瘤病例中29例获得随访(包括11例MALT淋巴瘤和18例DLBCL), 随访率53.7%。治疗方案上6例单纯手术切除, 2例用CHOP方案化疗, 17例手术后辅以其他治疗(12例行CHOP方案, 4例行R-CHOP方案, 1例行其他治疗), 2例用其他治疗方案, 2例放弃治疗。Cox多因素回归分

析结果如表3所示, 根据淋巴瘤中CARMA1表达情况绘制生存率曲线如图2、3所示。

3 讨论

NF- κ B是一类能与多种基因启动子或增强子的 κ B位点发生特异性结合并促进其转录的信号分子。迄今已发现有5种NF- κ B家族成员^[13-15], 他们以同源二聚体或异源二聚体的蛋白质结构存在于大多数细胞中。最常见的NF- κ B二聚体由p65和p50组成。在静息状态下, NF- κ B二聚体与NF- κ B的抑制蛋白(inhibitory κ B, I κ B)结合, 以无活性的三聚体形式存在于细胞浆中。当机体面临生存危机时, 在各种因素的作用下, NF- κ B进入核内开始转录, 从而调控多种细胞因子、黏附

表 3 对淋巴瘤生存的影响多种因素分析

	淋巴瘤类型	分期	CARMA1 mRNA	CARMA1蛋白	NF- κ B/p65	NF- κ B/p50	淋巴结累及	Ki-67
RR	7.801	5.601	0.648	6.135	5.889	0.515	0.127	0.550
P值	0.017	0.043	0.208	0.035	0.034	0.424	2.324	0.358

NF- κ B: 核因子 κ B; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

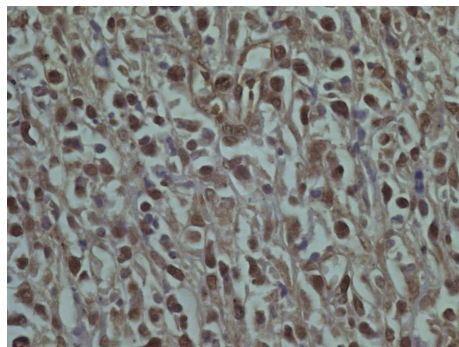


图 1 DLBCL中的CARMA1蛋白表达(SP, $\times 400$). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤.

分子、转录因子等编码基因的转录, 不仅能促进细胞增殖, 他还可以上调抗凋亡基因*BCL2*及凋亡蛋白抑制因子家族成员survivin的表达, 使肿瘤细胞逃避凋亡, 成为肿瘤细胞生存的关键因素^[16-20]. Davis等^[21]发现, 活化的B细胞来源样DLBCL细胞株中存在NF- κ B的异常持续活化, I κ B激酶(I κ B kinase, I κ K)活性增强, I κ B降解加速, 而在GCB样DLBCL中未能见到这种情况. 并有研究报道NF- κ B蛋白在ABC型DLBCL、伴有EBV感染DLBCL病例高表达, 体外抑制NF- κ B, 其靶基因*BCL2*、*survivin*表达下降而使细胞凋亡^[22,23]. 2008年新的WHO分类也提到NF- κ B在ABC样DLBCL中有异常活化, 而GCB亚型中未发现该异常^[11].

CARMA1能有效地整合来自细胞膜的信号系统, 对于多种刺激引起的NF- κ B活化有调节作用^[24-26]. 有研究报道: CARMA1在B细胞受体和T细胞受体刺激下引发I κ K复合物信号, 使NF- κ B信号通路活化, 从而调控淋巴细胞的增生并维持淋巴细胞生存^[27,28]. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜时, 导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10和MALT1结合, 并自身寡聚化形成CARMA1/ BCL10/ MALT1复合物(CBM complex), 降解I κ B从而调节NF- κ B的活化^[29]. 对T细胞分化的研究表明, CARMA1位于BCL10的上游, 在T细胞受体介导

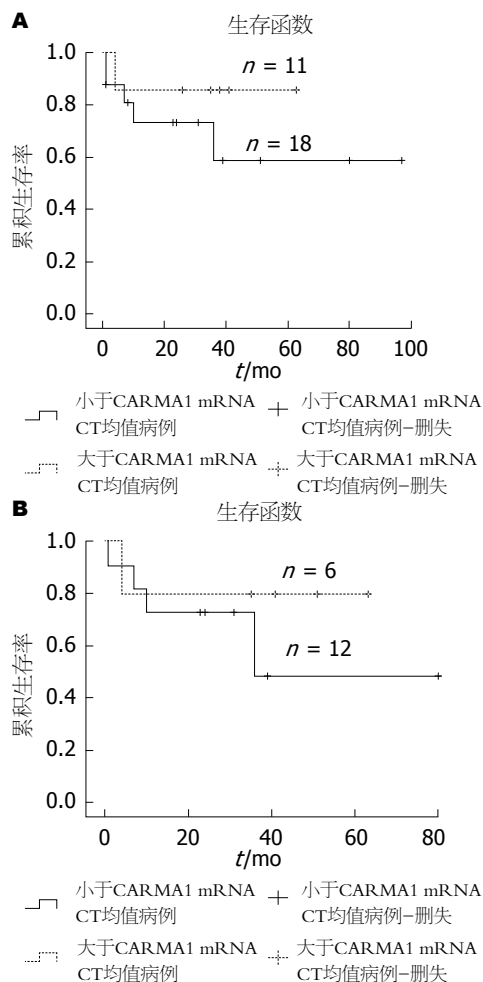


图 2 根据CARMA1 mRNA表达均值分组的生存曲线比较. A: 获访的29例病例生存分析($P = 0.351$); B: 获访的18例DLBCL生存分析($P = 0.482$). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

的NF- κ B活化过程中是必须的. CARMA1仅限于淋巴组织, 抑制CARMA1信号通路, 理论上产生效应仅限于淋巴系统, 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标^[30-32].

本研究通过Real-time PCR检测淋巴瘤组织中CARMA1 mRNA的表达水平, 用免疫组织化学染色检测CARMA1蛋白和NF- κ B蛋白中的两个主要亚型NF- κ B/p65、NF- κ B/p50. 结果发现在淋巴瘤组和淋巴组织反应性增生组病例之间, CARMA1、NF- κ B/p65、NF- κ B/p50

■应用要点

CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程, 使NF- κ B的异常持续活化可能是其作用的重要机制. CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关, 可能是其预后估计的相关因子, 可能成为相关淋巴瘤治疗的新靶点.

■同行评价

本文整体方法得当, 结果可靠, 很好的达到了预期的研究目的。

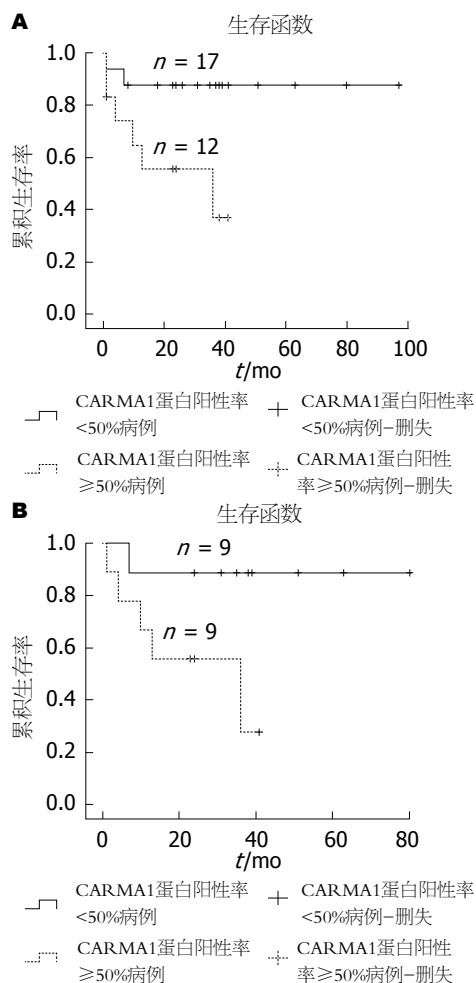


图3 根据CARMA1蛋白表达分组的生存曲线比较。A: 获访的29例病例生存分析($P = 0.020$); B: 获访的18例DLBCL生存分析($P = 0.045$)。

蛋白表达水平有明显的差异, 淋巴瘤组均明显高于淋巴组织反应性增生组病例。NF- κ B分子的定位与NF- κ B在细胞内的状态有关, 即在细胞浆内的无活性状态和细胞核内的活化状态, 故我们将NF- κ B的细胞核表达作为NF- κ B活化状态的标志。我们发现在淋巴瘤病例中虽然CARMA1 mRNA表达水平与NF- κ B/p65、NF- κ B/p50表达无明显相关, 但CARMA1蛋白表达却与这两种NF- κ B亚型均有明显的正相关关系。静息状态下, NF- κ B主要定位于细胞浆, 活化后NF- κ B从细胞浆迅速转运至细胞核, 并在短暂活化后被降解。MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1的表达致使肿瘤细胞中NF- κ B的异常持续活化, 加上其负调节因子A20的失活等因素, 引起NF- κ B表达水平的增加。这可能是CARMA1参与胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL发生和演进的重要机制。同时肿瘤中CARMA1基因可能存在转录后的表达调控。与MALT淋巴

瘤比较, DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达, 差异具有统计学意义。提示上述蛋白分子在淋巴瘤中的表达可能与其发生和发展过程有关。然而, 两种淋巴瘤中NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白表达未见统计学差异, 这提示CARMA1可能还通过其他的机制参与了MALT淋巴瘤向DLBCL转化的过程, 有待于进一步的研究。

本组病例的临床病理资料和随访资料分析发现: CARMA1 mRNA和蛋白表达水平在DLBCL组和高增殖活性组明显升高, 与相应比较组之间有统计学差异。CARMA1 mRNA在晚分期(III和IV期)病例中表达水平高于早分期(I和II期)病例, 在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(均 $P < 0.05$)。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例, 肿瘤细胞高增殖活性组病例中表达水平明显高于相应的比较组病例, 差异均有统计学意义。Cox回归分析发现: 淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL独立的预后影响因素, 4种因素的相对风险度接近。生存曲线比较, CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤病例及DLBCL病例的生存状况明显较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P 值分别为0.020和0.045)。分析结果表明CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白分子表达对胃肠MALT和DLBCL的临床病理特征和预后可能有一定影响。

总之, CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程, 使NF- κ B的异常持续活化可能是其作用的重要机制。CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关, 可能是其预后估计的相关因子。

4 参考文献

- Mathas S, Jöhrens K, Joos S, Lietz A, Hummel F, Janz M, Jundt F, Anagnostopoulos I, Bommer K, Lichter P, Stein H, Scheidereit C, Dörken B. Elevated NF-kappaB p50 complex formation and Bcl-3 expression in classical Hodgkin, anaplastic large-cell, and other peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2005; 106: 4287-4293 [PMID: 16123212 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3620]
- Lam LT, Davis RE, Pierce J, Hepperle M, Xu Y, Hottelet M, Nong Y, Wen D, Adams J, Dang L, Staudt LM. Small molecule inhibitors of IkappaB kinase are selectively toxic for subgroups of diffuse large B-cell lymphoma defined by gene expression profiling. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 28-40 [PMID: 15671525]

- 3 Gaide O, Martinon F, Mischeau O, Bonnet D, Thome M, Tschopp J. Carma1, a CARD-containing binding partner of Bcl10, induces Bcl10 phosphorylation and NF-kappaB activation. *FEBS Lett* 2001; 496: 121-127 [PMID: 11356195 DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02414-0]
- 4 Thome M, Charton JE, Pelzer C, Hailfinger S. Antigen receptor signaling to NF-kappaB via CARMA1, BCL10, and MALT1. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a003004 [PMID: 20685844 DOI: 10.1101/cshperspect.a003004]
- 5 Blonska M, Lin X. CARMA1-mediated NF-kappaB and JNK activation in lymphocytes. *Immunol Rev* 2009; 228: 199-211 [PMID: 19290929 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00749.x]
- 6 Egawa T, Albrecht B, Favier B, Sunshine MJ, Mirchandani K, O'Brien W, Thome M, Littman DR. Requirement for CARMA1 in antigen receptor-induced NF-kappa B activation and lymphocyte proliferation. *Curr Biol* 2003; 13: 1252-1258 [PMID: 12867038 DOI: 10.1016/S0960-9822(03)00491-3]
- 7 Lucas PC, McAllister-Lucas LM, Nunez G. NF-kappaB signaling in lymphocytes: a new cast of characters. *J Cell Sci* 2004; 117: 31-39 [PMID: 14657271 DOI: 10.1242/jcs.00904]
- 8 Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kappaB in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009; 459: 717-721 [PMID: 19412164 DOI: 10.1038/nature07968]
- 9 Lamason RL, McCully RR, Lew SM, Pomerantz JL. Oncogenic CARD11 mutations induce hyperactive signaling by disrupting autoinhibition by the PKC-responsive inhibitory domain. *Biochemistry* 2010; 49: 8240-8250 [PMID: 20799731 DOI: 10.1021/bi101052d]
- 10 Bu R, Bavi P, Abubaker J, Jehan Z, Al-Haqawi W, Ajarim D, Al-Dayel F, Uddin S, Al-Kuraya KS. Role of nuclear factor-kB regulators TNFAIP3 and CARD11 in Middle Eastern diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2012; 53: 1971-1977 [PMID: 22397314 DOI: 10.3109/10428194.2012.668286]
- 11 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Hea S. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon: IARC Press; 2008: 214-217
- 12 杨文秀, 李甘地, 周桥, 刘卫平, 张杰, 何小金. 肺原发性MALT型淋巴瘤API2-MALT1融合基因的检测及意义. *中华病理学杂志* 2004; 33: 233-237
- 13 Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132: 344-362 [PMID: 18267068 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.020]
- 14 Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 225-260 [PMID: 9597130 DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.225]
- 15 Ruland J, Mak TW. Transducing signals from antigen receptors to nuclear factor kappaB. *Immunol Rev* 2003; 193: 93-100 [PMID: 12752674 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2003.00049.x]
- 16 Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991 DOI: 10.1038/nrc780]
- 17 Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 441: 431-436 [PMID: 16724054 DOI: 10.1038/nature04870]
- 18 Inoue J, Gohda J, Akiyama T, Semba K. NF-kappaB activation in development and progression of cancer. *Cancer Sci* 2007; 98: 268-274 [PMID: 17270016 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00389.x]
- 19 Rayet B, Gélinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6938-6947 [PMID: 10602468]
- 20 Chiao PJ, Na R, Niu J, Sclabas GM, Dong Q, Curley SA. Role of Rel/NF-kappaB transcription factors in apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer* 2002; 95: 1696-1705 [PMID: 12365017 DOI: 10.1002/cncr.10829]
- 21 Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, Staudt LM. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; 194: 1861-1874 [PMID: 11748286 DOI: 10.1084/jem.194.12.1861]
- 22 Bavi P, Uddin S, Bu R, Ahmed M, Abubaker J, Balde V, Qadri Z, Ajarim D, Al-Dayel F, Hussain AR, Al-Kuraya KS. The biological and clinical impact of inhibition of NF-kB-initiated apoptosis in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). *J Pathol* 2011; 224: 355-366 [PMID: 21506127 DOI: 10.1002/path.2864]
- 23 陈玉梅, 杨文秀, 孟青, 钟愉. 弥漫大B细胞淋巴瘤CARMA1基因与MUM1表达的关系及其意义. *中华血液学杂志* 2011; 32: 236-240
- 24 Ruefli-Brasse AA, French DM, Dixit VM. Regulation of NF-kappaB-dependent lymphocyte activation and development by paracaspase. *Science* 2003; 302: 1581-1584 [PMID: 14576442 DOI: 10.1126/science.1090769]
- 25 Wang D, You Y, Case SM, McAllister-Lucas LM, Wang L, DiStefano PS, Nuñez G, Bertin J, Lin X. A requirement for CARMA1 in TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 830-835 [PMID: 12154356 DOI: 10.1038/ni824]
- 26 Gaide O, Favier B, Legler DF, Bonnet D, Brissoni B, Valitutti S, Bron C, Tschopp J, Thome M. CARMA1 is a critical lipid raft-associated regulator of TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 836-843 [PMID: 12154360 DOI: 10.1038/ni830]
- 27 Schmitz ML, Bacher S, Dienz O. NF-kappaB activation pathways induced by T cell costimulation. *FASEB J* 2003; 17: 2187-2193 [PMID: 14656980 DOI: 10.1096/fj.02-1100rev]
- 28 Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J, Cerroni L, Stolte M, Ott G, Raderer M, Chott A. T(14; 18)(q32; q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood* 2003; 101: 2335-2339 [PMID: 12406890 DOI: 10.1182/blood-2002-09-2963]
- 29 Du MQ. MALT lymphoma: many roads lead to nuclear factor-kb activation. *Histopathology* 2011; 58: 26-38 [PMID: 21261681 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03699.x]
- 30 Lenz G, Davis RE, Ngo VN, Lam L, George TC, Wright GW, Dave SS, Zhao H, Xu W, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Gascoyne RD, Connors JM, Rimsza LM, Campo E, Jaffe ES, Delabie J, Smeland EB, Fisher RI, Chan WC, Staudt LM. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* 2008; 319: 1676-1679

- [PMID: 18323416 DOI: 10.1126/science.1153629]
- 31 McCully RR, Pomerantz JL. The protein kinase C-responsive inhibitory domain of CARD11 functions in NF-kappaB activation to regulate the association of multiple signaling cofactors that differentially depend on Bcl10 and MALT1 for association. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5668-5686 [PMID: 18625728 DOI: 10.1128/MCB.00418-08]
- 32 Thome M. CARMA1, BCL-10 and MALT1 in lymphocyte development and activation. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 348-359 [PMID: 15122200 DOI: 10.1038/nri1352]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

原发性肝细胞癌CDC25A的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析

郭艳, 王茜, 杨志杰

郭艳, 王茜, 杨志杰, 南昌市中西医结合医院医学超声科 江西省南昌市 330003

郭艳, 主治医师, 主要从事超声影像的研究。

南昌市指导性科技计划基金资助项目, No. (2012)120号-9
作者贡献分布: 此课题由杨志杰设计; 研究过程由郭艳、王茜及杨志杰操作完成; 研究所需标本由郭艳收集; RT-PCR和Western blot由王茜完成; 多普勒超声检查由杨志杰完成; 数据收集和分析由郭艳完成; 本论文写作由杨志杰完成。

通讯作者: 杨志杰, 主任医师, 333003, 江西省南昌市八一大道90号, 南昌市中西医结合医院医学超声科。lufen6677@163.com
收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-12
接受日期: 2013-08-28 在线出版日期: 2013-09-18

Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma

Yan Guo, Qian Wang, Zhi-Jie Yang

Yan Guo, Qian Wang, Zhi-Jie Yang, Department of Medical Ultrasound, Nanchang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanchang 330003, Jiangxi Province, China

Supported by: Nanchang Guidance Technology Projects, No. (2012)120-9

Correspondence to: Zhi-Jie Yang, Chief Physician, Department of Medical Ultrasound, Nanchang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, 90 Bayi Avenue, Nanchang 330003, Jiangxi Province, China. lufen6677@163.com

Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-28 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of cell division cycle 25A (CDC25A) in primary hepatocellular carcinoma (PHC) and to explore its relationship with Doppler ultrasound imaging features.

METHODS: The expression of CDC25A in 86 PHC specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens was detected by RT-PCR and Western blot. The imaging features of PHC was analyzed by Doppler ultrasound.

RESULTS: CDC25A was found to be overexpressed

in 75.58% (65/86) of PHC cases ($P < 0.05$). The expression of CDC25A protein was significantly correlated with Doppler ultrasound imaging features including tumor size, blood flow grade, resistance index (RI) and portal vein invasion (all $P < 0.05$), but not with the number of liver tumor nodes ($P > 0.05$).

CONCLUSION: CDC25A may play an important role in the development and metastasis of PHC. Detection of CDC25A expression combined with ultrasound imaging may be used clinically for evaluation of treatment response and prognosis in PHC patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: CDC25A; Primary hepatocellular carcinoma; Ultrasonography

Guo Y, Wang Q, Yang ZJ. Correlation between expression of CDC25A and Doppler ultrasound features in primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2649-2654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2649.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2649>

摘要

目的: 检测细胞分裂周期蛋白25A(cell division cycle 25A, CDC25A)基因在原发性肝细胞癌组织中的表达, 探讨其与肝癌多普勒超声影像特征的关联。

方法: 运用RT-PCR和Western blot的方法检测86例肝癌组织及对应癌旁组织中CDC25A基因的表达; 用B超观察肝癌患者肝脏肿瘤影像学特征。

结果: 在86例肝癌病例中, 75.58%(65/86)的肝癌组织CDC25A mRNA和蛋白表达明显高于对应癌旁组织($P < 0.05$); 肝癌组织中CDC25A的表达与多普勒超声影像特征如肿瘤的大小、血流分级、血流阻力指数及门静脉侵袭情况明显相关($P < 0.05$), 与肝脏肿瘤结节的个

■背景资料

CDC25A是CDC25家族的重要成员之一, 近年研究发现CDC25A在G₁/S、G₂/M期转换过程中发挥关键调节作用, 并且证实多种恶性肿瘤中表达上调, 且与肿瘤的侵袭和不良预后相关。

■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤医院和干预重点实验室。

■研发前沿

彩色多普勒超声具有廉价、无创伤、无辐射、可重复检查等优点。分析与肝癌密切相关蛋白的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的发生和发展,对临床治疗方案的选择和预后的评估具有指导意义。

数无关($P>0.05$)。

结论: *CDC25A* 基因可能在肝癌的发生及转移过程中发挥重要作用,肝癌组织中*CDC25A* 基因的表达与超声影像相结合可为肝癌临床治疗及预后判断提供理论依据。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: *CDC25A*; 原发性肝细胞癌; 超声

核心提示: 肝癌组织中*CDC25A*表达呈过表达且与多普勒超声影像特征如肿瘤的大小、血流分级、血流阻力指数(resistance index)及门静脉侵袭情况明显相关。

郭艳, 王茜, 杨志杰. 原发性肝细胞癌*CDC25A*的表达与多普勒超声影像特征的关联性分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2649-2654 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2649> asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2649>

0 引言

原发性肝细胞性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是我国乃至世界上恶性程度最高的肿瘤之一,其发生发展是一个多步骤多阶段的复杂过程,每一个过程都受多个基因或蛋白的精确调节^[1-8]。细胞分裂周期蛋白25A(cell division cycle 25A, *CDC25A*)是*CDC25*家族的重要成员之一,近年研究发现*CDC25A*在 G_1/S 、 G_2/M 期转换过程中发挥关键调节作用,并且证实存在肺癌、乳腺癌和结肠癌等多种恶性肿瘤中表达上调^[9-20],且与肿瘤的侵袭和不良预后相关^[21]。总之,*CDC25A*在恶性肿瘤的发生发展中起重要作用。本研究采用RT-PCR及Western blot的方法检测*CDC25A*基因在肝癌组织中的表达,运用彩色多普勒超声观察肿瘤的影像学特征,探讨其相互关联及其意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-09/2012-12南昌市中西医结合医院86例肝癌及对应癌旁组织手术标本,所有标本均经病理学检查确诊,其中男49例,女37例,年龄33-64岁,平均46.1岁。其中肿瘤直径<5 cm患者47例,≥5 cm患者39例;单个肿瘤的57例,≥2个肿瘤的29例;超声血流分级: I级12例, II级34例, III级40例。有门静脉侵袭38例,无门静脉侵袭48例。所有患者术前均未接受放化疗。RNA提取试剂盒(美国Invitrogen公司);总蛋白提取试剂盒(北京普利莱)、兔抗人*CDC25A*单克隆抗

体(美国Santa Cruz公司)、 β -actin二抗(北京中杉金桥公司);彩色蛋白Marker(北京普利来公司);BCA蛋白定量试剂盒(江苏碧云天公司);1kb plus Marker(北京TIANGEN公司);西门子中狮王彩色多普勒超声诊断仪(德国西门子公司)。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR检测*CDC25A* mRNA的表达: 采用RNA提取试剂盒提取癌组织及对应癌旁组织中总RNA,测定浓度, -80℃保存。首先取2 μg总RNA为反应模板与3 μL逆转录酶相互混合,反应体系为20 μL,反应条件为: 16℃ 30 min, 45℃ 30 min, 85℃ 5 min。反应结束后,收集cDNA。进行PCR扩增反应。反应条件: 95℃ 5 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共40个循环,最后72℃延伸7 min。琼脂糖凝胶电泳,拍照。以 β -actin作为内参。实验重复3次。*CDC25A*上游引物: 5'-GAGGAGTCTCACCTGGAAGTACA-3', 下游引物: 5'-GCCATTCAAACCAGATGC-CATAA-3'。

1.2.2 Western blot检测*CDC25A*蛋白表达: 运用总蛋白提取试剂盒提取肝癌组织及癌旁组织中的总蛋白,经10%SDS-PAGE电泳后转膜,将膜放在含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中37℃封闭2 h,加一抗稀释液1:500稀释兔抗人*CDC25A*单克隆抗体在4℃孵育过夜,1×TBST缓冲液3次(每次10 min),加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG(1:5000稀释),置于37℃孵育2 h,1×TBST缓冲液3次(每次10 min),运用ECL化学发光法检测目的蛋白条带。以 β -actin作为内参。

1.2.3 肝脏的彩色多普勒成像: 运用德国西门子中狮王彩超仪。3.5兆探头,观察整个肝脏及其周围器官的回声,记录肝脏肿块的大小及个数;调整多普勒血流参数至瘤体血流显示最佳状态,然后行血流分级, I级: 瘤体内及周边见稀疏星点状血流信号; II级: 肿瘤体内及周边见3条以上线状血流信号; III级: 瘤体内及周边见密集的彩色血流信号。查找瘤体内波动性血流,测其最高收缩期峰值流速所对应的血流阻力指数(resistance index, RI)为记录值。同时观察记录门静脉癌栓大小形态及彩色血流的特点。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行分析。计量资料以mean±SD表示,癌及癌旁组织比较采用配对样本*t*检验;两样本均数间的比较采用*t*检验; χ^2 检验用于多组间率或百分比的比较; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

■相关报道

研究发现*CDC25A*细胞周期转换过程中发挥重要作用,并且证实存在肝癌等多种恶性肿瘤中表达增加,然而其与肝癌影像学特征之间的关联还不清楚。

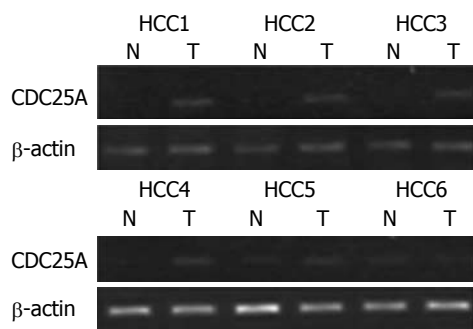


图 1 RT-PCR检测86例肝癌组织及对应的癌旁组织中CDC25A mRNA的表达。T: 癌组织; N: 癌旁组织。HCC1-6表示部分典型病例。HCC: 肝细胞癌; CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A。

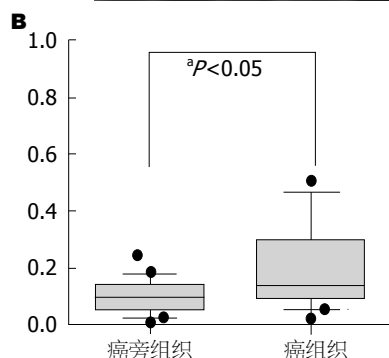
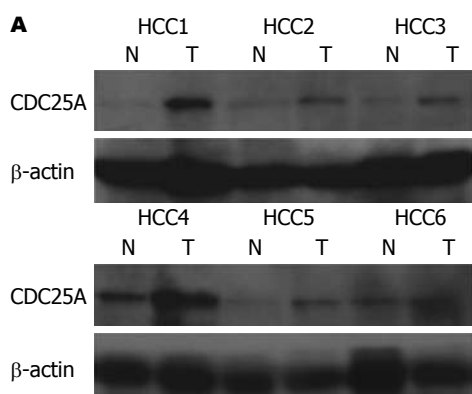


图 2 86例患者肝癌及对应的癌旁组织CDC25A蛋白的表达。A: Western blot结果; B: 盒状图。T: 癌组织; N: 癌旁组织。HCC: 肝细胞癌; CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A。

2 结果

2.1 肝癌组织CDC25A mRNA的表达情况 运用RT-PCR检测86例肝癌患者癌及癌旁组织中CDC25A mRNA的表达情况, 结果发现: 75.58%(65/86)的病例肝癌组织CDC25A mRNA的表达明显高于相对应的癌旁组织中的表达, 结果有统计学意义($t = 23.54, P < 0.05$)(图1)。其他24.42%(21/86)的病例肝癌组织CDC25A mRNA的表达与癌旁比无明显差别($t = 0.86, P > 0.05$)。

2.2 肝癌组织CDC25A蛋白的表达情况 进一步运用Western blot的方法检测86例肝癌患者癌

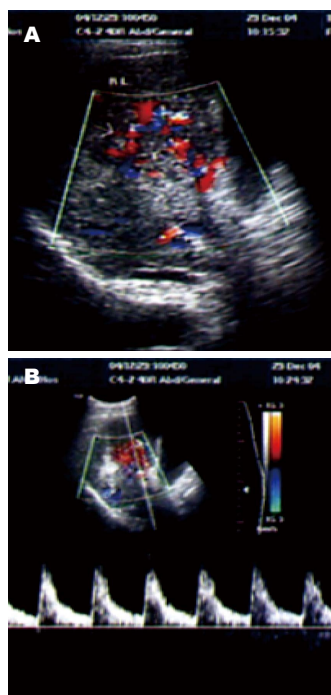


图 3 肝细胞癌彩色多普勒血流信号。A: 星点状及线状血流信号; B: 血流阻力测量。

■创新盘点
本研究首次分析肝癌组织中CDC25A的表达与肝细胞癌影像学特征之间的关联。

及癌旁组织中CDC25A蛋白的表达情况, 结果发现: CDC25A蛋白在癌和癌旁组织的表达与CDC25A mRNA一致, 75.58%(65/86)的病例肝癌组织CDC25A蛋白的表达明显高于相对应的癌旁组织中的表达($t = 27.32, P < 0.05$)(图2)。

2.3 CDC25A蛋白的表达与肝癌超声影像特征的关联 彩色多普勒显示肝细胞癌瘤体内为星点状及线状血流信号(图3)。肝癌组织中CDC25A蛋白的表达与肝癌超声影像特征如肿瘤的大小、血流的分级、RI及门静脉侵袭情况明显相关(CDC25A蛋白表达越高, 瘤体的直径越大, 血流分级及RI越高, 门静脉侵袭越多)($P < 0.05$)(表1, 2)。而CDC25A蛋白的表达与肿瘤结节的个数无关($P > 0.05$)。另外, 研究发现肿瘤直径增大, RI值也增高($P < 0.05$)(表2)。

3 讨论

原发性肝细胞癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一, 具有生长快、容易发生侵袭和转移等特点。肝癌的发生发展是一个多步骤、多阶段、多途径、多个因素共同调控的复杂生物学过程^[22-28]。研究报道CDC25A肝癌等在多种恶性肿瘤中过表达^[9-21]。我们利用RT-PCR和Western blot方法也发现CDC25A mRNA和蛋白在肝癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 结果有统计学意义, 说明CDC25A基因可能在肝癌中起着非常重要的作用。

彩色多普勒超声具有廉价、无创伤、无辐

■应用要点

肝癌组织中CD-C25A的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的病理进展。

表 1 CDC25A的表达与肝癌超声征象的关联

超声征象	n	CDC25A		χ^2 值	P值
		过表达	非过表达		
肿瘤大小(cm)				14.39	<0.001
<5	47	28	19		
≥5	39	37	2		
肿瘤结节个数				0.33	0.57
1	57	42	15		
≥2	29	23	6		
血流分级					
I	12	4	8		
II	34	24	10	5.17 ^a	0.02 ^a
III	40	37	3	19.37 ^b	<0.001 ^b
门静脉侵袭				21.02	<0.001
(+)	38	36	2		
(-)	48	29	19		

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs I级。CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A。

表 2 CDC25A的表达及肿瘤直径与血流阻力指数的关系

	n	血流阻力指数	t值	P值
CDC25A			3.24	0.01
过表达	65	0.84 ± 0.09		
非过表达	31	0.62 ± 0.08		
肿瘤大小(cm)			2.92	0.02
<5	47	0.68 ± 0.08		
≥5	39	0.82 ± 0.09		

CDC25A: 细胞分裂周期蛋白25A。

射、可重复检查等优点,对病变的诊断和随访具有重要的临床应用价值。我们采用彩色多普勒技术术前检测患者的瘤体大小、个数以及门静脉侵袭情况,分析其与CDC25A蛋白表达的关联,结果发现肝癌组织中CDC25A蛋白的表达与肿瘤的大小及门静脉侵袭情况密切相关。这与Xu等^[21]报道发现肝癌中CDC25A高表达与肿瘤的门静脉侵袭显著相关的结果一致。研究已经证实瘤体的血流参数与肿瘤的一些基本生物学特征有关联,通过了解瘤体内的血流信号参数可以估计肿瘤的生物行为。我们利用多普勒技术观察肝细胞癌肿块内的血流信号,以评估瘤体内的血供并分析其与CDC25A基因表达的关系,结果发现CDC25A蛋白表达与瘤体内血流分级显著相关。以上结果表明说明CDC25A高表达在促进肝癌的血管侵袭方面起重要作用。

RI是评价动脉血流阻力的主要参数之一,因

RI值不会受测量角度因素的干扰,故其测量的结果较客观。我们研究发现肝脏瘤体直径增大,RI值也高。我们分析其原因可能为随着肿瘤直径的增大,肝固有动脉的直径及最大流速都明显高于正常值,血管分支增多,走向异常,并具有收缩和波动性的高速动脉血流^[29]。因瘤体内的血管管壁无平滑肌,韧性差,此外加上门静脉癌栓生成、肿瘤假包膜的破坏及动、静脉瘘生成,所以肿瘤内的血管形成窦腔,从而舒张末期的血流速度变慢,导致RI升高^[30]。另外,我们还发现RI值与CDC25A基因的表达显著相关,随着RI的增高,CDC25A基因表达也逐渐增多。这进一步表明CDC25A的表达与肝癌的血管生成情况相关。所以检测肝癌组织中CDC25A蛋白的表达及肿瘤的血管情况将有助于提高肿瘤血管侵袭的阳性率。

总之,CDC25A蛋白的表达与肝癌的多普勒超声影像特征显著相关,分析肝癌组织中CDC25A蛋白的表达联合术前超声多普勒技术可以用于初步评估肿瘤的发生和发展,对临床治疗方案的选择和预后的评估具有指导意义。

4 参考文献

- 1 Lin YS, Wang TY, Lin JC, Wang HY, Chou KF, Shih SC, Chen MJ. Hepatic carcinosarcoma: clinicopathologic features and a review of the literature. *Ann Hepatol* 2013; 12: 495-500 [PMID: 23619269]
- 2 Suh SJ, Yim HJ. [Current status of molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma]. *Korean J Gastroenterol* 2013; 61: 136-146 [PMID: 23575232]
- 3 Zheng Z, Zhou L, Gao S, Yang Z, Yao J, Zheng S.

- Prognostic role of C-reactive protein in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Int J Med Sci* 2013; 10: 653-664 [PMID: 23569429 DOI: 10.7150/ijms.6050]
- 4 Liu L, Dai Y, Chen J, Zeng T, Li Y, Chen L, Zhu YH, Li J, Li Y, Xie D, Yuan YF, Guan XY. Maelstrom promotes hepatocellular carcinoma metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition via Akt/GSK-3 β /snail signaling. *Hepatology* 2013 Aug 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23929794 DOI: 10.1002/hep.26677]
 - 5 Chang HF, Wu CH, Yang LL. Antitumour and free radical scavenging effects of γ -mangostin isolated from *Garcinia mangostana* pericarps against hepatocellular carcinoma cell. *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 1419-1428 [PMID: 23927480 DOI: 10.1111/jphp.12111]
 - 6 Takeda A, Sanuki N, Eriguchi T, Kobayashi T, Iwabuchi S, Matsunaga K, Mizuno T, Yashiro K, Nisimura S, Kunieda E. Stereotactic ablative body radiotherapy for previously untreated solitary hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Aug 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23927053 DOI: 10.1111/jgh.12350]
 - 7 Xu HS, Li SY, Liang X, Shou JD, Xu K, He YT. Hepatocellular Carcinoma Presenting as a Wandering Abdominal Lump with Atypical CEUS. *Ultraschall Med* 2013; 34: 388-390 [PMID: 23929380]
 - 8 Hata S, Miki Y, Saito R, Ishida K, Watanabe M, Sasano H. Aromatase in human liver and its diseases. *Cancer Med* 2013; 2: 305-315 [PMID: 23930207 DOI: 10.1002/cam4.85]
 - 9 Younis RH, Cao W, Lin R, Xia R, Liu Z, Edelman MJ, Mei Y, Mao L, Ren H. CDC25A(Q110del): a novel cell division cycle 25A isoform aberrantly expressed in non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2012; 7: e46464 [PMID: 23071577 DOI: 10.1371/journal.pone.0046464]
 - 10 Brunetto E, Ferrara AM, Rampoldi F, Talarico A, Cin ED, Grassini G, Spagnuolo L, Sassi I, Ferro A, Cuorvo LV, Barbareschi M, Piccinin S, Maestro R, Pecciarini L, Doglioni C, Cangi MG. CDC25A protein stability represents a previously unrecognized target of HER2 signaling in human breast cancer: implication for a potential clinical relevance in trastuzumab treatment. *Neoplasia* 2013; 15: 579-590 [PMID: 23730206]
 - 11 Jin Y. 3,3'-Diindolylmethane inhibits breast cancer cell growth via miR-21-mediated Cdc25A degradation. *Mol Cell Biochem* 2011; 358: 345-354 [PMID: 21761201 DOI: 10.1007/s11010-011-0985-0]
 - 12 Chang HY, Shih MH, Huang HC, Tsai SR, Juan HF, Lee SC. Middle infrared radiation induces G2/M cell cycle arrest in A549 lung cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e54117 [PMID: 23335992 DOI: 10.1371/journal.pone.0054117]
 - 13 Feng X, Wu Z, Wu Y, Hankey W, Prior TW, Li L, Ganju RK, Shen R, Zou X. Cdc25A regulates matrix metalloprotease 1 through Foxo1 and mediates metastasis of breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 3457-3471 [PMID: 21670150 DOI: 10.1128/MCB.05523-11]
 - 14 Jin Y, Zou X, Feng X. 3,3'-Diindolylmethane negatively regulates Cdc25A and induces a G2/M arrest by modulation of microRNA 21 in human breast cancer cells. *Anticancer Drugs* 2010; 21: 814-822 [PMID: 20724916 DOI: 10.1097/CAD.0b013e32833e53ea]
 - 15 Naderi A, Liu J. Inhibition of androgen receptor and Cdc25A phosphatase as a combination targeted therapy in molecular apocrine breast cancer. *Cancer Lett* 2010; 298: 74-87 [PMID: 20605569 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.06.005]
 - 16 Mehdipour P, Pirouzpanah S, Sarafnejad A, Atri M, Shahrestani ST, Haidari M. Prognostic implication of CDC25A and cyclin E expression on primary breast cancer patients. *Cell Biol Int* 2009; 33: 1050-1056 [PMID: 19555767 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.06.016]
 - 17 Wang P, Zou F, Zhang X, Li H, Dulak A, Tomko RJ, Lazo JS, Wang Z, Zhang L, Yu J. microRNA-21 negatively regulates Cdc25A and cell cycle progression in colon cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69: 8157-8165 [PMID: 19826040 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1996]
 - 18 Yun HJ, Hyun SK, Park JH, Kim BW, Kwon HJ. Widdrol activates DNA damage checkpoint through the signaling Chk2-p53-Cdc25A-p21-MCM4 pathway in HT29 cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 363: 281-289 [PMID: 22160829 DOI: 10.1007/s11010-011-1180-z]
 - 19 de Oliveira PE, Zhang L, Wang Z, Lazo JS. Hypoxia-mediated regulation of Cdc25A phosphatase by p21 and miR-21. *Cell Cycle* 2009; 8: 3157-3164 [PMID: 19738433]
 - 20 Sørensen CS, Melixetian M, Klein DK, Helin K. NEK11: linking CHK1 and CDC25A in DNA damage checkpoint signaling. *Cell Cycle* 2010; 9: 450-455 [PMID: 20090422]
 - 21 Xu X, Yamamoto H, Sakon M, Yasui M, Ngan CY, Fukunaga H, Morita T, Ogawa M, Nagano H, Nakamori S, Sekimoto M, Matsuura N, Monden M. Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1764-1772 [PMID: 12738732]
 - 22 Chen YL, Wang TH, Hsu HC, Yuan RH, Jeng YM. Overexpression of CTHRC1 in Hepatocellular Carcinoma Promotes Tumor Invasion and Predicts Poor Prognosis. *PLoS One* 2013; 8: e70324 [PMID: 23922981 DOI: 10.1371/journal.pone.0070324]
 - 23 He SL, Shen J, Sun XJ, Zhu XJ, Liu LM, Dong JC. Efficacy of capecitabine and oxaliplatin regimen for extrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma following local treatments. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4552-4558 [PMID: 23901232 DOI: 10.3748/wjg.v19.i28.4552]
 - 24 Yan H, Dong X, Zhong X, Ye J, Zhou Y, Yang X, Shen J, Zhang J. Inhibitions of epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cells-like properties are involved in miR-148a-mediated anti-metastasis of hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2013 Jul 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23861222 DOI: 10.1002/mc.22064]
 - 25 Wang F, Qiao Y, Yu J, Ren X, Wang J, Ding Y, Zhang X, Ma W, Ding Y, Liang L. FBX8 Acts as an Invasion and Metastasis Suppressor and Correlates with Poor Survival in Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e65495 [PMID: 23826080]
 - 26 Vega FM, Fruhwirth G, Ng T, Ridley AJ. RhoA and RhoC have distinct roles in migration and invasion by acting through different targets. *J Cell Biol* 2011; 193: 655-665 [PMID: 21576392 DOI: 10.1083/

■名词解释

肿瘤血流阻力指数: 评价肿瘤血管血流阻力的主要参数之一, 可反映肿瘤的血液供应情况。

■同行评价

本文能利用肝细胞癌CDC25A蛋白表达与多普勒超声影像的关联性,分析CDC25A蛋白表达对肝细胞癌的转移与影像学吻合性。研究结果有较好的创新性,是影像学和分子生物研究肿瘤的一个较好的例子。

jcb.201011038]

- 27 Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 453-458 [PMID: 12778135]
- 28 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904

[PMID: 16892035]

- 29 欧亚平, 陈玉桂, 李勇军. 彩色多普勒血流显像对原发性肝癌的诊断分析. *中国医药导报* 2007; 4: 121-123
- 30 Yang ZF, Poon RT. Vascular changes in hepatocellular carcinoma. *Anat Rec (Hoboken)* 2008; 291: 721-734 [PMID: 18484619 DOI: 10.1002/ar.20668]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

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

糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展

张慧, 张庆

张慧, 张庆, 中国人民武装警察部队总医院 北京市 100039
张慧, 主要从事消化系统肿瘤的研究。
作者贡献分布: 本文综述由张慧完成; 张庆负责审校。
通讯作者: 张庆, 副主任医师, 硕士生导师, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院. zqy6920@sina.com
电话: 010-57976854
收稿日期: 2013-05-02 修回日期: 2013-05-28
接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma

Hui Zhang, Qing Zhang

Hui Zhang, Qing Zhang, the General Hospital of the Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China
Correspondence to: Qing Zhang, Associate Chief Physician, the General Hospital of the Chinese People's Armed Police Forces, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. zqy6920@sina.com
Received: 2013-05-02 Revised: 2013-05-28
Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors. Hepatitis B or hepatitis C virus infection has been considered the most important etiologic factor for human HCC. Recently, it has been suggested that diabetes mellitus is a risk factor for HCC, and that insulin resistance as a critical component of diabetes mellitus pathogenesis may be involved in the occurrence of hepatitis virus-related HCC. Since IRS-1-Ser312 is a molecule that is involved in the pathogenesis of both hepatitis C virus and diabetes mellitus, IRS-1 or ROS may play a role in the development of HCC associated with diabetes mellitus and hepatitis B virus. Hence, diabetes mellitus and hepatitis virus not only are independent risk factors for HCC but also interact with each other to contribute to the development of this malignancy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Diabetes

mellitus; Hepatitis B virus; Hepatitis C virus

Zhang H, Zhang Q. Progress in understanding role of diabetes mellitus in the development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2655-2660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2655>

摘要

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上最常见的恶性肿瘤之一, 肝炎病毒感染(乙型肝炎病毒与丙型肝炎病毒)是肝癌的主要致病因素。近年研究发现糖尿病也是肝癌发生的高危因素之一。胰岛素抵抗可能是糖尿病引发肝癌的关键环节, 糖尿病可能与肝炎病毒协同作用参与肝癌的发生。这些研究认为糖尿病可能与丙型肝炎病毒存在共同的作用分子胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)-Ser312诱发肿瘤生长; 糖尿病与乙型肝炎病毒可能通过IRS-1、过量反应氧体系共同发挥致癌作用; 糖负荷可以增加胰岛素抵抗, 诱导肝癌产生。因此, 糖尿病与肝炎病毒感染不仅作为独立病因诱发肝癌, 两者也可能协同作用促进肝癌发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝细胞癌; 糖尿病; 乙型肝炎病毒; 丙型肝炎病毒

核心提示: 本文提出糖尿病诱发肝癌的关键环节是胰岛素抵抗, 糖尿病与肝炎病毒通过胰岛素抵抗中的关键分子胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1)共同诱发肝癌, 并提出乙型肝炎病毒与糖尿病可以通过过量反应氧体系(reactive oxygen species)与增加糖负荷诱发肝癌。

张慧, 张庆. 糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2655-2660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2655.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2655>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 简称肝癌, 是临床上最常见的恶性肿瘤之一^[1], 其发

■背景资料

乙型肝炎与丙型肝炎病毒感染是肝癌的主要致病因素。糖尿病是肝癌发生的高危因素之一, 胰岛素抵抗可能是糖尿病引发肝癌的关键环节。本文对糖尿病与肝炎病毒的相关关系与诱发肝癌的相关机制进行分析, 提出糖尿病与肝炎病毒二者可作为独立因素诱发肝癌, 也可协同作用促进肝癌发生。

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

■ 研发前沿

目前世界上大多研究丙型肝炎病毒与糖尿病之间的关系及其相关分子机制,乙型肝炎病毒与糖尿病之间的关系以及肝炎病毒与糖尿病共同诱发肝癌的相关机制,糖尿病对于肝癌发生的基因层面的影响仍是该领域研究的重点和难点。

病率与病死率在近10年中持续增长^[2]。肝癌大部分发生在慢性肝病患者中,持续的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是HCC的主要致病因素^[3]。据统计,全球范围内将近3%的世界人口感染HCV,约20亿人感染HBV^[4]。中国是HBV高发国家,约80%以上的肝癌患者与慢性HBV感染有关。此外,随着糖尿病发病率的逐年增高,近年来大量研究发现糖尿病也是肝癌发生的高危因素之一^[5-7]。据国际糖尿病协会报道,2011年糖尿病患者将增长到3.6亿人,占全球成人总数的3%^[8]。糖尿病患者中HCC的发生率达37%^[7]。目前认为肝炎病毒感染与糖尿病作为肝癌发生的两大高危因素严重威胁国民健康^[1,7],并且两者可共同作用促进肝癌发生^[5]。然而,糖尿病与肝炎病毒共同参与HCC的发生机制尚不明确。本文现就糖尿病与肝炎病毒的协同作用及其诱发肝癌机制的研究进展作一综述。

1 糖尿病与HCC的发生

1.1 糖尿病与肝癌的关系 1986年Lawson等^[9]在对105例肝癌患者与105例大肠癌患者进行长期的抗惊厥类药物应用比较中,意外发现HCC患者中糖尿病的发生率超过了大肠癌患者的4倍。Jha等^[10]将200例HCC患者与250例非肝癌对照组进行比较,发现糖化血红蛋白在肝癌组中的比率(7.6%)高于非肝癌对照组(6.8%),糖尿病在HCC中的发生率(34%)明显高于非肝癌组(10%),且存在统计学意义($OR = 4.63, P < 0.001$),提示肝癌发生与糖尿病相关。El-Serag等^[6]通过对13个HCC相关研究进行系统回顾与Meta分析,结果发现在HCC的高危因素(肝炎、酒精、性别、种族等)中糖尿病是HCC发生的独立风险因素。此外,糖尿病患者中脂肪肝发生率高达54.5%^[5],而许多研究发现非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与HCC之间存在相关性^[6,10]。据统计约有4%-27%NAFLD的终末期疾病脂肪性肝炎后肝硬化患者发展为肝癌^[11]。NAFLD是胰岛素抵抗在肝脏的临床表现^[10]。因此目前认为糖尿病是HCC发生的高危因素之一^[12]。

1.2 糖尿病诱发肝癌的相关机制 糖尿病中的胰岛素抵抗是胰岛素敏感性降低的结果。由于不同原因导致胰岛素对于葡萄糖清除减少,机体为保持正常代谢功能,促使胰岛素分泌增加,引起代偿性高胰岛素血症,以维持血糖稳定^[13]。胰岛素抵抗是糖尿病的早期表现,其通过激活

胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1),可产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),白介素(interleukin 6, IL-6)增强肿瘤细胞因子炎性活动,并可通过修饰DNA甲基化改变肿瘤细胞基因型及表观遗传变异。此外高胰岛素血症能够促进肝星状细胞增生加速肝纤维化,进而诱发肝癌^[14]。目前认为糖尿病诱发肝癌的作用机制如下:胰岛素抵抗通过激活IRS-1,促进促有丝分裂,加速肿瘤细胞的增殖和转移^[15,16]。El-Serag等^[6]用杆菌素治疗糖尿病小鼠进行胰岛抑制从而建立一种肝癌的内分泌模型,结果观察到从癌前病变至肝癌的发展受到胰岛素驱使。胰岛素抵抗造成胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF-1与IGF-2)与胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)过表达并激活IRS-1^[17-20],后者作为细胞转化和癌变的调节因子,激活磷酸酶和张力蛋白同源磷酸酶肿瘤/磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路、多种肿瘤细胞株和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MAPK)信号通路,加速细胞周期,促进有丝分裂,诱导细胞增生、转化和抗凋亡,促进肿瘤细胞增殖和转移^[21,22]。

胰岛素抵抗产生过量反应氧体系(reactive oxygen species, ROS),促进肿瘤细胞的增殖以及DNA突变诱发癌变。胰岛素抵抗通过多元醇和蛋白糖基化途径,刺激糖尿病患者的血浆中产生过量ROS^[23,24]。一方面ROS激活肝脏非实质细胞(肝星状细胞等)导致肝硬化,并通过自分泌与旁分泌形式激活肝星状细胞。后者增加肝细胞胶原间质沉积,肝细胞炎性坏死, Mallory小体形成,促进肝硬化及肿瘤形成^[25,26]。另一方面持续的ROS通过活化的丝氨酸-苏氨酸激酶级联反应削弱胰岛素效应,促进胰岛素抵抗。并通过修饰DNA甲基化,导致DNA突变,诱发癌变^[27]。

胰岛素抵抗诱发NAFLD,导致肝硬化进而促进肝癌发生。NAFLD发生的关键步骤是胰岛素抵抗,后者造成胰岛素对脂肪代谢调节功能减弱^[28,29],血浆游离脂肪酸增加使肝脏合成三酰甘油(triglyceride, TG)增加, TG在肝脏组织中沉积,肝细胞溶酶体稳定性降低,肝细胞发生脂肪样变^[30]。游离脂肪酸引发促炎性细胞因子(TGF- α 、IL-6、IL-8)过度表达,使肝脏进一步发展成脂肪性肝炎。肝脏脂肪样变进一步导致线粒体损伤,产生氧化应激,使ROS增加,促使肝脏向炎症,纤维化,硬化与癌变发展^[31,32]。

2 糖尿病与肝炎病毒相关性HCC

2.1 糖尿病与HCV相关性HCC

2.1.1 糖尿病与HCV的关系: Wang等^[33]对4958例肝炎病毒血清学阳性与阴性患者进行7年研究, 发现474例发展为糖尿病, HCV抗体阳性患者糖尿病累积发生风险最高(14.7%, 秩和检验 $P<0.0001$), 而性别、HBV表面抗原阳性等因素发生风险均无统计学意义, 提示HCV感染是糖尿病发生的独立风险因素. Hung等^[34]将81例持续慢性非糖尿病的HCV患者与健康人群分别对血清学细胞因子与胰岛素抵抗稳态模型(HOMA-IR)的水平进行比较, 结果发现慢性HCV感染患者中胰岛素抵抗水平与TNF- α 、IL-6、IL-10水平均高于正常人群, 并通过增加TNF- α 、IL-6等细胞炎性因子加速慢性HCV感染肝脏的组织学进程. Ko等^[35]发现在感染基因型1型的HCV患者中, 超过75%的患者出现一种与胰岛素抵抗高度相关的代谢性肝脂肪样变; 在感染HCV基因型3型的患者中, 脂肪变性与病毒载量相关, 且被称为病毒性脂肪样变. 可见HCV感染与糖尿病导致的胰岛素抵抗相关的肝脂肪样变关系密切. 由于糖尿病导致肝癌发生的相关机制目前已逐渐明确, 由此推断HCV感染与糖尿病之间可能存在某种共同致癌的代谢途径, 诱发肝癌的发生与发展.

2.1.2 糖尿病与HCV的协同作用: HCV核心蛋白能够抑制Akt-Thr308位点磷酸化诱发胰岛素抵抗. Akt即蛋白激酶B, 是一种丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)蛋白激酶. HCV核心蛋白通过抑制Akt-Thr308位点磷酸化诱导胰岛素抵抗, Akt信号转导通路与胰岛素受体关系密切, 负责来自于胞膜到细胞内胰岛素受体对于代谢, 转录, 与转化的指令, 并作为生长因子受体下游通路的一部分被激活. Akt激活需要磷脂酰肌醇-3激酶产生的磷脂酰肌醇三磷酸盐, 以及上游磷酸肌醇依赖激酶进行独立位点磷酸化. 并直接作用于糖酵解途径和线粒体功能, 被认为是代谢的早期快速应答. Akt激活能够引起生长因子与原癌基因应答, 从而增加葡萄糖载体的膜定位与转录. Akt信号长期改变, 破坏循环葡萄糖与器官寿命的稳定. HCV核心蛋白能破坏Akt-Thr308位点激活, 抑制胰岛素, 阻碍葡萄糖摄取, 诱发胰岛素抵抗^[21,32]. HCV核心蛋白通过上调IRS-1-Ser312位点磷酸化水平削弱胰岛素信号的传导能力, 诱发胰岛素抵抗. Banerjee等^[32]将HepG2与Huh-7细胞进行HCV转染, 利用永生化人体肝

细胞(immortalized human hepatocytes, IHH)进行HCV繁殖, 结果发现HCV核心蛋白不仅能够激活MAPK, 而且可以上调IRS-1-Ser312位点磷酸化水平. 另外, IRS-1的Ser残基磷酸化(主要为Ser-312位点), 可以削弱胰岛素信号传导的能力, 从而抑制外周组织对葡萄糖的正常摄取, 诱发胰岛素抵抗^[36].

HCV核心蛋白通过PA28 γ 独立通路诱发胰岛素抵抗. PA28 γ 与HCV核心蛋白密切相关, 一方面PA28 γ 可以通过蛋白酶体独立通路加速HCV核心蛋白降解; 另一方面, HCV核心蛋白与PA28 γ 在细胞核中共同作用也同样是肝脏脂肪变与癌变的前提^[32]. Moriya等^[37]在转基因PA28 γ (+/+)CoreTg小鼠中发现HCV核心蛋白通过PA28 γ 独立通路抑制IRS-1酪氨酸磷酸化以及产生IRS-2, 诱发胰岛素抵抗.

HCV核心蛋白直接损伤胰岛B细胞的功能, 引起胰岛素抵抗. 胰岛可以在HCV感染后出现形态变化, 引起葡萄糖刺激胰岛素释放紊乱. HCV核心蛋白直接损伤临近组织, 包括胰岛B细胞的功能损伤, 由此限制胰岛素对于高糖血症的应答, 最终发展为胰岛素抵抗^[38]. 胰岛素抵抗是引发糖尿病的关键环节以及促进肝癌发生的主要因素. 由此推测HCV感染可诱发糖尿病, 并可能与糖尿病共同促进肝癌发生.

2.2 糖尿病与HBV相关性肝癌

2.2.1 糖尿病与HBV的关系: 当前全球约有35000万HBV慢性携带者^[5]. Iroezindu等^[39]对204例持续HBsAg>6 mo且无糖尿病的患者进行交叉研究, 发现52(25.5%)例出现空腹血糖受损, 且空腹血糖受损是糖尿病的独立预测因素(OR = 8.23, 95%CI: 2.78-24.31). Huo等^[40]对239例肝癌切除术后患者进行分析发现, 糖尿病组中HBV相关性肝癌切除术后5年的生存率是40%, 明显低于非糖尿病组73%的生存率, 并发现较糖尿病组中肝脏出现更频繁且持续性的炎症反应. 该研究提出糖尿病是HBV相关性肝癌术后复发的独立预测因素. Ko等^[35]将359例肝癌患者与1536例非肝癌患者进行比较分析, 结果发现HBV与糖尿病对于肝癌的协同作用(SI = 3.19, 95%CI: 1.50-6.80)高于HBV本身的单独作用. 因此, 目前认为糖尿病是HBV相关性肝癌发生、发展的风险因素之一, 并且糖尿病与HBV可能存在某种协同作用促进肝癌的发生.

2.2.2 糖尿病与HBV的协同作用: IRS-1与HBx的双重表达协同作用于肝脏组织诱发癌变. HBx基

■相关报道

与该研究有关的相关研究报道了糖尿病与肝炎病毒相关性肝癌的关系, 并从不同层面分析胰岛素抵抗, 糖耐量异常, 糖负荷水平增加与肝炎病毒的关系, 研究范围系统且全面.

■创新盘点

本文分别对丙型肝炎病毒、乙型肝炎病毒与糖尿病之间的相关关系及其诱发肝癌的可能相关机制进行综合性阐述,这是之前该领域报道中不曾有过的,让读者对糖尿病诱发病毒相关性肝癌的发生有更全面更新的认识。

因在HBV基因中是最小的开放阅读框,包含154个氨基酸。HBx具备多种功能,包括转录、激活信号转导,以及干扰线粒体和DNA修复功能。对病毒感染与复制起到重要作用。HBx往往整合到肝癌细胞基因组中发挥作用^[41]。Longato等^[42]在HBV感染的肝脏不典型增生中观察到有25%的小鼠基因表达HBx与IRS-1,其中有3个病例出现肝癌,在单独表达IRS-1与HBx中却没有发现肝癌,HBx或IRS-1单独表达并不能充分引起肝脏肿瘤的发生。IGF/IRS-1/Ras/Raf/ErK MAPK是肝癌发生的持续性信号激活的主要途径之一,IRS-1的持续表达通过激活IGF-1/IRS-1/ErKMAPK途径引起生长和生存信号增加,从而诱发癌变^[43]。高胰岛素血症时,胰岛素信号通路中IRS-1过表达^[44]。因此,可以推断糖尿病与HBV作为肝癌发生的两种独立因素存在时,二者通过HBx与IRS-1共同表达诱发肝癌。

糖尿病与HBV感染均可通过激活ROS引发癌变。HBV感染引起活性氧体系ROS增加导致氧化应激和DNA损伤^[25,45]。胰岛素抵抗可以诱发糖尿病患者产生过量ROS。ROS能够激活与脂质过氧化相关的肝星状细胞促进炎症发生,并伴随着线粒体损伤,促进肝癌发展^[31]。因此糖尿病与HBV二者均可通过激活ROS引发癌变。

糖负荷增加胰岛素抵抗,与HBV共同增加肝癌发生风险。糖负荷的提出体现了碳水化合物数量对血糖的影响。糖负荷是血糖应答和由食物引起的胰岛素需求的应答。高糖负荷水平可以引起慢性胰岛素水平升高,增加胰岛素抵抗诱发肿瘤^[46]。Lagiou等^[47]对333例HCC患者与369例非HCC患者进行半定量食物频率问卷评估糖负荷水平,结果发现糖负荷同HBV相关性肝癌的发生正相关且存在统计学意义,并提出减少糖负荷能够减少肝癌发生风险。Rossi等^[48]对186例HCC患者与412例对照组进行3年食物频率问卷,结果发现糖负荷与HCC正相关,在HBV病毒感染组中OR = 3.25(95%CI: 1.46-7.22),高于非病毒感染组OR = 2.45(95%CI: 0.69-8.64)。

2.3 糖尿病与隐匿性HBV 隐匿性HBV感染可以解释为HBV DNA在肝脏组织中敏感性升高,但却不存在可观察到的表面抗原。确切的隐匿性HBV感染在生物学中和临床上并不能完全被检测出来。但HBV DNA在感染和宿主细胞中均能够被发现。HBV通过增加DNA的插入从而发挥其潜在的致癌潜能。较高的HBV DNA水平可以增加肝癌的发生危险^[49]。Demir等^[46]对100

例HBcAb阳性糖尿病患者与100例HBcAb阳性健康人的血液进行检测,结果发现糖尿病组中HBV-DNA检出率为11%,高于对照组3%检出率。Nagaoki等^[5]对1374例肝癌患者进行了14年肝癌临床特征调查,结果发现隐匿性HBV感染可以存在于非肝炎病毒相关性肝癌的患者中,并可以增加非肝炎病毒相关性肝癌的发生风险。由此推断隐匿性HBV感染可能增加糖尿病诱发肝癌的发生风险。

3 结论

糖尿病与肝炎病毒均是肝癌发生的高危因素之一,二者可作为独立病因诱发肝癌,也可协同作用促进肝癌发生。阐明糖尿病与肝炎病毒感染协同诱发肝癌机制有助于早期、及时地进行肝癌防治。感染HBV或HCV的肝炎患者应该注重改善生活方式和膳食控制代谢,并加强糖尿病的早期诊断及治疗。未来的研究重点应该放在糖尿病对于肝脏肿瘤基因层面的影响。

4 参考文献

- 1 Ye JZ, Miao ZG, Wu FX, Zhao YN, Ye HH, Li LQ. Recurrence after anatomic resection versus nonanatomic resection for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 1771-1777 [PMID: 22901120 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.5.1771]
- 2 Dogan E, Yalcin S, Koca D, Olmez A. Clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2985-2990 [PMID: 22938494 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2985]
- 3 Shima T, Uto H, Ueki K, Takamura T, Kohgo Y, Kawata S, Yasui K, Park H, Nakamura N, Nakatou T, Tanaka N, Umemura A, Mizuno M, Tanaka J, Okanoue T. Clinicopathological features of liver injury in patients with type 2 diabetes mellitus and comparative study of histologically proven nonalcoholic fatty liver diseases with or without type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol* 2013; 48: 515-525 [PMID: 22911170 DOI: 10.1007/s00535-012-0653-5]
- 4 Gao J, Xie L, Yang WS, Zhang W, Gao S, Wang J, Xiang YB. Risk factors of hepatocellular carcinoma-current status and perspectives. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 743-752 [PMID: 22631642 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.3.743]
- 5 Nagaoki Y, Hyogo H, Aikata H, Tanaka M, Naeshiro N, Nakahara T, Honda Y, Miyaki D, Kawaoka T, Takaki S, Hiramatsu A, Waki K, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Recent trend of clinical features in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2012; 42: 368-375 [PMID: 22151896 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00929.x]
- 6 El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 369-380 [PMID: 16527702 DOI: 10.1016/j.cgh.2005.12.007]
- 7 Polesel J, Zucchetto A, Montella M, Dal Maso L,

- Crispo A, La Vecchia C, Serraino D, Franceschi S, Talamini R. The impact of obesity and diabetes mellitus on the risk of hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol* 2009; 20: 353-357 [PMID: 18723550 DOI: 10.1093/annonc/mdn565]
- 8 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- 9 Lawson DH, Gray JM, McKillop C, Clarke J, Lee FD, Patrick RS. Diabetes mellitus and primary hepatocellular carcinoma. *Q J Med* 1986; 61: 945-955 [PMID: 2819932]
- 10 Jha DK, Mittal A, Gupta SP, Pandeya DR, Sathian B. Association of type II diabetes mellitus with hepatocellular carcinoma occurrence--a case control study from Kathmandu Valley. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5097-5099 [PMID: 23244117 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.10.5097]
- 11 Siegel AB, Zhu AX. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma: two growing epidemics with a potential link. *Cancer* 2009; 115: 5651-5661 [PMID: 19834957 DOI: 10.1002/cncr.24687]
- 12 Porepa L, Ray JG, Sanchez-Romeu P, Booth GL. Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease. *CMAJ* 2010; 182: E526-E531 [PMID: 20566726 DOI: 10.1503/cmaj.092144]
- 13 Höpfner M, Huether A, Sutter AP, Baradari V, Schuppan D, Scherübl H. Blockade of IGF-1 receptor tyrosine kinase has antineoplastic effects in hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 1435-1448 [PMID: 16530734 DOI: 10.1016/j.bcp.2006.02.006]
- 14 Ma HB, Huang T, Han F, Chen WY. Association between MDM2 promoter SNP309 T/G polymorphism and liver cancer risk - a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2841-2846 [PMID: 22938470 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2841]
- 15 Morss AS, Edelman ER. Glucose modulates basement membrane fibroblast growth factor-2 via alterations in endothelial cell permeability. *J Biol Chem* 2007; 282: 14635-14644 [PMID: 17327226 DOI: 10.1074/jbc.M608565200]
- 16 Chen CL, Yang HI, Yang WS, Liu CJ, Chen PJ, You SL, Wang LY, Sun CA, Lu SN, Chen DS, Chen CJ. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology* 2008; 135: 111-121 [PMID: 18505690 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.07]
- 17 Kaji K, Yoshiji H, Kitade M, Ikenaka Y, Noguchi R, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Yamazaki M, Moriya K, Tsujimoto T, Kawaratani H, Akahane T, Uemura M, Fukui H. Impact of insulin resistance on the progression of chronic liver diseases. *Int J Mol Med* 2008; 22: 801-808 [PMID: 19020779 DOI: 10.3892/ijmm.00000088]
- 18 Lam CS, Chen MH, Lacey SM, Yang Q, Sullivan LM, Xanthakis V, Safa R, Smith HM, Peng X, Sawyer DB, Vasan RS. Circulating insulin-like growth factor-1 and its binding protein-3: metabolic and genetic correlates in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1479-1484 [PMID: 20378848 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.203943]
- 19 Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor I in maintaining normal glucose homeostasis. *Horm Res* 2004; 62 Suppl 1: 77-82 [PMID: 15761237 DOI: 10.1159/000080763]
- 20 Nussbaum T, Samarin J, Ehemann V, Bissinger M, Ryschich E, Khamidjanov A, Yu X, Gretz N, Schirmacher P, Breuhahn K. Autocrine insulin-like growth factor-II stimulation of tumor cell migration is a progression step in human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2008; 48: 146-156 [PMID: 18537183 DOI: 10.1002/hep.22297]
- 21 Boissan M, Beurel E, Wendum D, Rey C, Léluc Y, Housset C, Lacombe ML, Desbois-Mouthon C. Overexpression of insulin receptor substrate-2 in human and murine hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 2005; 167: 869-877 [PMID: 16127164]
- 22 Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 987-1000 [PMID: 16250043 DOI: 10.1002/hep.20920]
- 23 Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 95 [PMID: 16262897 DOI: 10.1186/1471-2334-5-95]
- 24 Tessari P, Coracina A, Cosma A, Tiengo A. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19: 291-302 [PMID: 19359149 DOI: 10.1016/j.numecd]
- 25 Hsu MC, Huang CC, Chang HC, Hu TH, Hung WC. Overexpression of Jab1 in hepatocellular carcinoma and its inhibition by peroxisome proliferator-activated receptor{gamma} ligands in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4045-4052 [PMID: 18593980 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5040]
- 26 Roberts RA, Ganey PE, Ju C, Kamendulis LM, Rusyn I, Klaunig JE. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Sci* 2007; 96: 2-15 [PMID: 17122412 DOI: 10.1093/toxsci/kfl173]
- 27 Aronis A, Madar Z, Tirosh O. Mechanism underlying oxidative stress-mediated lipotoxicity: exposure of J774.2 macrophages to triacylglycerols facilitates mitochondrial reactive oxygen species production and cellular necrosis. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 1221-1230 [PMID: 15808420 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62058-5]
- 28 Mohan V, Farooq S, Deepa M, Ravikumar R, Pitchumoni CS. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in urban south Indians in relation to different grades of glucose intolerance and metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 84: 84-91 [PMID: 19168251 DOI: 10.1016/j.diabres.2008.11.039]
- 29 Kim SK, Kim HJ, Ahn CW, Park SW, Cho YW, Lim SK, Lee HC, Cha BS. Hyperleptinemia as a robust risk factor of coronary artery disease and metabolic syndrome in type 2 diabetic patients. *Endocr J* 2008; 55: 1085-1092 [PMID: 18724043 DOI: 10.1507/endocrj]
- 30 Ertle J, Dechêne A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, Gerken G, Syn WK, Canbay A. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-2443 [PMID: 21128245 DOI: 10.1002/ijc.25797]
- 31 Luedde T, Beraza N, Kotsikoris V, van Loo G, Nenci A, De Vos R, Roskams T, Trautwein C, Pasparakis M. Deletion of NEMO/IKKgamma in liver parenchymal cells causes steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2007; 11: 119-132 [PMID: 17292824 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.12.016]
- 32 Banerjee S, Saito K, Ait-Goughoulte M, Meyer K,

■应用要点

本文对糖尿病与肝炎病毒的相关关系及其协同诱发肝癌的相关机制等方面进行综述, 通过对肝癌高危因素相互关系的深入了解, 才能对肝癌进行早期、及时的预防与治疗。

■同行评价

本文综述糖尿病与肝炎病毒相关性肝癌发生的相关性的研究进展。选题切中临床需要,紧扣前沿,具有一定指导意义。

- Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein up-regulates serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs the downstream akt/protein kinase B signaling pathway for insulin resistance. *J Virol* 2008; 82: 2606-2612 [PMID: 18160431 DOI: 10.1128/JVI.01672-07]
- 33 Wang CS, Yao WJ, Chang TT, Wang ST, Chou P. The impact of type 2 diabetes on the development of hepatocellular carcinoma in different viral hepatitis statuses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2054-2060 [PMID: 19549812 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-1131]
- 34 Hung CH, Lee CM, Wang JH, Hu TH, Chen CH, Lin CY, Lu SN. Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. *Int J Cancer* 2011; 128: 2344-2352 [PMID: 20669224 DOI: 10.1002/ijc.25585]
- 35 Ko WH, Chiu SY, Yang KC, Chen HH. Diabetes, hepatitis virus infection and hepatocellular carcinoma: A case-control study in hepatitis endemic area. *Hepatol Res* 2012; 42: 774-781 [PMID: 22469194 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.00979.x]
- 36 Haruta T, Uno T, Kawahara J, Takano A, Egawa K, Sharma PM, Olefsky JM, Kobayashi M. A rapamycin-sensitive pathway down-regulates insulin signaling via phosphorylation and proteasomal degradation of insulin receptor substrate-1. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 783-794 [PMID: 10847581 DOI: 10.1210/me.14.6.783]
- 37 Miyamoto H, Moriishi K, Moriya K, Murata S, Tanaka K, Suzuki T, Miyamura T, Koike K, Matsuura Y. Involvement of the PA28gamma-dependent pathway in insulin resistance induced by hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2007; 81: 1727-1735 [PMID: 17135326 DOI: 10.1128/JVI.01683-06]
- 38 Gutiérrez-Grobo Y, Ponciano-Rodríguez G, Méndez-Sánchez N. Viral hepatitis infection and insulin resistance: a review of the pathophysiological mechanisms. *Salud Publica Mex* 2011; 53 Suppl 1: S46-S51 [PMID: 21877073 DOI: 10.1590/S0036-36342011000700009]
- 39 Iroezindu MO, Isiguzo GC, Young EE. Prevalence and predictors of impaired fasting glucose among Nigerian patients with hepatitis B virus infection. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 98: 338-345 [PMID: 22995732 DOI: 10.1016/j.diabres.2012.08.006]
- 40 Huo TI, Wu JC, Lui WY, Lee PC, Huang YH, Chau GY, Tsay SH, Chang FY, Lee SD. Diabetes mellitus is a recurrence-independent risk factor in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma undergoing resection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 1203-1208 [PMID: 14560154]
- 41 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 42 Longato L, de la Monte S, Kuzushita N, Horimoto M, Rogers AB, Slagle BL, Wands JR. Overexpression of insulin receptor substrate-1 and hepatitis Bx genes causes premalignant alterations in the liver. *Hepatology* 2009; 49: 1935-1943 [PMID: 19475691 DOI: 10.1002/hep.22856]
- 43 Jones RA, Campbell CI, Gunther EJ, Chodosh LA, Petrik JJ, Khokha R, Moorehead RA. Transgenic overexpression of IGF-IR disrupts mammary ductal morphogenesis and induces tumor formation. *Oncogene* 2007; 26: 1636-1644 [PMID: 16953219 DOI: 10.1038/sj.onc.1209955]
- 44 Nishiyama M, Wands JR. Cloning and increased expression of an insulin receptor substrate-1-like gene in human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183: 280-285 [PMID: 1311924]
- 45 Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, Ames BN, Chisari FV. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 12808-12812 [PMID: 7809125]
- 46 Demir M, Serin E, Göktürk S, Öztürk NA, Kulaksizoglu S, Yılmaz U. The prevalence of occult hepatitis B virus infection in type 2 diabetes mellitus patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 668-673 [PMID: 18679070 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f55e1e]
- 47 Lagiou P, Rossi M, Tzonou A, Georgila C, Trichopoulos D, La Vecchia C. Glycemic load in relation to hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis infection. *Ann Oncol* 2009; 20: 1741-1745 [PMID: 19528361 DOI: 10.1093/annonc/mdp059]
- 48 Rossi M, Lipworth L, Maso LD, Talamini R, Montella M, Polesel J, McLaughlin JK, Parpinel M, Franceschi S, Lagiou P, La Vecchia C. Dietary glycemic load and hepatocellular carcinoma with or without chronic hepatitis infection. *Ann Oncol* 2009; 20: 1736-1740 [PMID: 19549710]
- 49 Nordenstedt H, White DL, El-Serag HB. The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2010; 42 Suppl 3: S206-S214 [PMID: 20547305 DOI: 10.1016/S1590-8658(10)60507-5]

编辑 田滢 电编 闫晋利



肾素-血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用

黄元龙, 邓明明

黄元龙, 邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

黄元龙, 在读硕士, 主要从事胃肠与胰腺病学方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由黄元龙完成; 邓明明负责审校。

通讯作者: 邓明明, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科。

793070544@qq.com

电话: 0830-3165331

收稿日期: 2013-06-03 修回日期: 2013-07-26

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis

Yuan-Long Huang, Ming-Ming Deng

Yuan-Long Huang, Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ming-Ming Deng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Ji-angyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 793070544@qq.com

Received: 2013-06-03 Revised: 2013-07-26

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract

The renin-angiotensin system (RAS) is known as a circulating or hormonal system regulating blood pressure, electrolyte and fluid homeostasis. Recent studies have found that, in addition to the circulating RAS, local renin-angiotensin systems also exist in several tissues and organs. Pancreatic renin-angiotensin system can not only regulate exocrine and endocrine function but also, via paracrine and (or) autocrine mechanisms, participate in the pathology and pathophysiology of pancreas-related diseases such as acute pancreatitis, diabetes, and pancreatic cancer. Acute pancreatitis (AP) is a common acute abdominal disease of the digestive system, which is often complicated with many other serious diseases and is therefore associated with a high overall mortality. At present, the etiology and pathogenesis of AP have not been fully elucidated yet. Thus, the proposed concept of a local RAS in the pancreas may provide a new avenue for the development of new treatments for AP.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Renin-angiotensin system

Huang YL, Deng MM. Regulatory role of the rennin-angiotensin system in acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2661-2667 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2661>

摘要

肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)是一种在调节血压、维持水电解质平衡的循环或内分泌系统。近年来研究发现,除循环系统的RAS,很多组织器官也存在局部RAS。胰腺组织RAS不仅参与胰腺内外分泌功能的调节,而且通过旁分泌和/或自分泌方式参与胰腺相关疾病如急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)、糖尿病、胰腺癌、胰岛移植的病理和病理生理过程。AP为消化系统常见的急腹症。由于其病情重,并发症多,导致死亡率高,其病因和发病机制尚未完全阐明且一直为研究的焦点。因此,胰腺局部RAS的提出,为缺乏特异性治疗方法的AP提供了新的思路。本文对RAS的不同分轴在AP中的调控作用做一综述,为胰腺炎的治疗提供了一条新思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性胰腺炎; 肾素-血管紧张素系统

核心提示: 急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)时肾素-血管紧张素系统的两大轴血管紧张素转换酶-血管紧张素II-血管紧张素II 1型受体轴与血管紧张素转换酶2-血管紧张素(1-7)-Mas轴激活,前者主要起病理生理作用,而后者可拮抗前者起到一定保护作用,通过对两大轴的调控可以减轻AP所致的损伤。

黄元龙, 邓明明. 肾素-血管紧张素系统在急性胰腺炎中的调控作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2661-2667 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2661>

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症,其病因和发病机制尚不明确,缺乏特异性的治疗。肾素血管紧张素系统这一多元系统的不同分轴在AP时表达程度不同,因此以该系统作为靶点治疗AP可能具有重要的临床意义。

■同行评议者

陈其奎, 教授, 广东省广州市, 中山大学附属第二医院消化内科

■研究前沿

胰腺组织内肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)的激活在AP的发病机制中为一研究焦点。但胰腺炎局部RAS激活后不同分支RAS组分的改变及其调控的上下游炎症途径尚需进一步研究阐明,从而为AP的治疗奠定新的理论和方法。

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症之一,尤其是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),病程进展快,并发症多,临床常并发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF),导致病情严重,死亡率增高。AP的发病机制目前尚不完全清楚,有多种学说和观点。近年来,研究发现肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)还广泛存在于大脑、心脏、肾脏、性腺、肾上腺、消化系统等多种组织和器官,局部的RAS通过自分泌和旁分泌及胞内分泌途径在各自组织器官的生理和病理生理的调节中起着重要作用^[1-3]。因此RAS与AP关系亦得到重视。越来越多研究发现,较循环系统中的RAS,胰腺组织局部RAS通过旁分泌和/或自分泌方式在AP的病理和病理生理过程中有着更为重要的作用。随着对RAS的深入研究和RAS组分的新发现,近年来将RAS系统分为两大轴,即血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)-血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)-血管紧张素II 1型受体(angiotensin II receptor type 1, AT1R)轴与血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)-血管紧张素(1-7)[angiotensin(1-7), Ang(1-7)]-Mas受体轴,两轴系统的平衡主要集中在两种效应分子Ang II与Ang(1-7)的平衡上,前者主要起病理生理作用,而后者可拮抗前者起到一定保护作用,本文就这两大轴与AP的关系作一综述。

1 ACE-Ang II-AT1R轴与AP

1.1 ACE-Ang II-AT1R轴的组成 ACE-Ang II-AT1R轴为经典的RAS组成链,即肾素酶切血管紧张素原(angiotensinogen, AGT)生成十肽的血管紧张素I(angiotensin I, Ang I),Ang I随后被血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)酶切去除两个氨基酸后产生8肽有活性的Ang II。Ang II为一线状小肽,是ACE-Ang II-AT1R轴主要的效应成分^[4]。Ang II除由ACE作用产生外,还可通过其他途径产生,如糜蛋白酶催化Ang I转化为Ang II^[5],组织蛋白酶G、组织型纤溶酶原激活剂(tissue type plasminogen activator, tPA)直接催化AGT形成Ang II;前肾素/肾素受体广泛分布于局部器官组织^[6],通过与前肾素结合并内化后不但刺激细胞内Ang II的大量

合成,同时可以不依赖于Ang II直接激活细胞内丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化^[7]。来源于多条途径的Ang II作用于其不同受体发挥不同的特定作用。

1.2 ACE-Ang II-AT1R轴在胰腺的表达 在过去十几年,局部RAS在胰腺内外分泌腺的存在逐渐得以证实^[8-10]。Chappell等^[11,12]首先在狗的胰腺组织中证实AGT、Ang II的表达,随后亦首次报道大鼠胰腺泡细胞AR42J细胞系表达ACE-Ang II-AT1R轴的全部组分,包括:AGT、肾素、ACE和AT1a、AT1b、AT2受体。1999年Leung等^[13]在大鼠胰腺组织中也发现肾素、血管紧张素原等RAS组分的表达及AT1a、AT1b、AT2受体亚型的表达,且主要位于胰腺导管上皮细胞、血管内皮细胞、胰岛细胞,而胰腺腺泡细胞相对较少。Lam等^[14]发现人类胰腺的胰岛细胞表达AGT、导管细胞表达AT1和AT2受体,在胰腺肿瘤时上述组分表达上调;随后Ramrancheya等^[15]发现胰岛素的分泌直接由Ang II调控。进一步研究显示Ang II及其受体AT1、AT2在啮齿类动物及人的胰腺中主要位于胰腺导管上皮细胞、血管内皮细胞等导管系统中^[16]。Ang II受体亚型有4种:AT1、AT2、AT3、AT4受体。AT1受体是其中的最为重要的受体。在啮齿类动物中,AT1受体亚型又分为两种异构型:AT1a和AT1b,特别是AT1a在胰腺炎时表达增加,而AT1b表达无明显变化。AT1受体主要介导Ang II的经典生物学活性,包括血管收缩、钠的重吸收、细胞增殖、胞外基质形成、炎症反应及氧化应激等^[17]。AT2受体主要存在于人胚胎组织、脑组织等,其也定位于啮齿类动物的胰腺导管上皮细胞和血管内皮细胞等^[13]。AT2受体激活一方面拮抗AT1受体来阻断血管收缩,促进细胞凋亡等效应;另一方面,过度激活时则导致心肌肥大、纤维化、动脉粥样硬化、炎症因子活化等病理状态。AT3、AT4受体的分布和所介导的功能目前尚不清楚。

1.3 ACE-Ang II-AT1R轴在AP中的作用机制 AP是以胰腺组织水肿、腺泡细胞坏死以及受损腺体的出血和炎症为特点的一种炎症性疾病。AP时ACE-Ang II-AT1轴激活上调,胰腺组织中肾素、血管紧张素原、Ang II及其受体等RAS组分明显增加^[13,18]。AP损伤结局与胰腺RAS活化密切相关。RAS可能在以下几个方面参与AP的发病机制:(1)微循环障碍。胰腺小叶微动脉为终末动脉,其间无吻合支,AP时RAS激活产生

的Ang II与其受体结合后产生强烈的缩血管作用,引起胰腺组织缺血,毛细血管淤血,氧分压下降,这些因素相互作用使胰腺微血管持续痉挛导致微循环处于恶性循环状态。微循环障碍既是AP发生的使动因子,同时AP又能损伤胰腺自身和全身微循环^[19]。Ang II亦可通过激活酪氨酸激酶Jak2/Rho转化因子Arhgef1/RhoA途径来介导血管收缩,调节血管紧张度^[20]。因此抑制Ang II的作用可以减弱胰腺局部RAS的激活,减轻微循环障碍所致的损伤。Carlsson等^[21]用微球技术发现Ang II呈剂量依赖性的减少胰岛血液灌注和胰岛素的分泌,给以ACE抑制剂enalaprilate能够改善上述情况。Tsang等^[22]在雨蛙素诱导的AP模型中应用AT1受体亚型拮抗剂Losartan与血管平滑肌AT1受体结合而拮抗Ang II的血管收缩作用,降低末梢血管阻力,改善胰腺微循环障碍,减轻胰腺损伤。Ip等^[23]研究发现ACE抑制剂Captopril能够减低胰腺炎时ACE的蛋白表达量,对胰腺炎病变起到保护作用,其机制可能与降低应激反应程度,改善微血管内皮功能,保护胰腺微循环有关;(2)促进炎症介质产生。RAS参与了像黏附分子、趋化因子、细胞因子、转化因子等前炎症因子的产生^[24]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是发生AP时体内重要的前炎症因子之一,其水平变化与AP的严重程度密切相关^[25]。Ang II促进黏附分子(胞间黏附分子-1、E-选择素等)和细胞因子[TNF- α 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1等]的合成和释放,其机制可能是激活炎症信号转导通路核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B),继而调节细胞因子、黏附分子、趋化因子的等基因表达,同时上述前炎症因子刺激各种炎症细胞,形成炎症瀑布,使炎症反应不断放大失控,从而参与SIRS发病机制。由于NF- κ B在Ang II介导的炎症损伤中起着关键作用,故抑制Ang II可降低NF- κ B活性,减少其调控的炎症因子的表达,减轻炎症反应^[26]。Oruc等^[27]证实在大鼠AP模型中应用TNF- α 拮抗剂英夫利昔能够明显降低血清淀粉酶、胰腺组织病理评分以及抑制炎症细胞的浸润和改善AP时所致相关脏器的功能障碍。Pupilli等和Williams等^[28,29]研究表明Ang II可以有效促进血管渗透因子/血管内皮生长因子(vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, VPF/VEGF)合成分泌,并呈剂量、时间依赖性,从而导致血管通透性的增加,导致胰腺组织局部炎细胞浸润和血管内大分子物质

的渗出,促进组织炎性水肿,这种作用是通过AT1受体介导的。AT1拮抗剂缬沙坦可以可以阻断其作用改善AP的病理变化及减轻肺部炎症等全身炎症反应^[30];(3)大量氧自由基的产生。自由基的释放和清除机制的紊乱与AP的发病以及发展进程有关。AP时的"缺血-再灌注"损伤产生大量氧自由基。Schieffer等^[31]证实血管紧张素II可增加氧自由基,活化炎症信号传导通路JAK激酶/信号传导和转录激活因子[(janus kinase, JAK)/(signal transducer and activator of transcription, STAT)]。Leung等^[32]通过研究发现,Ang II可通过增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶或黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的活性刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞大量合成活性氧(reactive oxygen species, ROS)。大量氧自由基的产生引起细胞膜脂质过氧化而导致细胞毒效应,他是机体内细胞损伤的分子机制中重要一环^[33]。Mervaala等^[34]在双转基因大鼠试验研究中,用AT1受体拮抗剂缬沙坦可恢复Ang II引起的黄嘌呤氧化酶活性增加和氧化应激所致的血管内皮细胞功能失调。因此急性胰腺炎时ACE-Ang II-AT1R轴的组分表达增加,阻断该轴显示对胰腺损伤起到保护作用。

2 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴与AP

2.1 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的组成 ACE2是ACE家族中第一个被发现的ACE同系物,其为一单羧肽多底物金属蛋白酶,也是SARS冠状病毒感染易感细胞必需的功能性受体^[35]。ACE2存在于胃肠、心脏、肾脏、睾丸、胰腺和子宫内膜等处^[36]。Ang-(1-7)是RAS中重要的活性七肽,其产生有3条途径:(1)由脯氨酸内肽酶(prolyl endopeptidase, PE)、脯氨酸羧基肽酶、ACE2水解Ang II产生,这条途径也是Ang-(1-7)产生的主要途径^[37];(2)PE、中性肽链内切酶(neprilysin, NEP)水解Ang I直接产生;(3)Ang I经ACE2代谢生成血管紧张素(1-9)[angiotensin(1-9), Ang(1-9)],再经ACE作用产生。Mas受体是一种原癌基因编码的7次跨膜G蛋白偶联受体^[38]。Ang(1-7)是该受体的内源性结合物,Mas转染可增加Ang(1-7)的活性。Mas受体在体内可以对抗AT1R的作用^[39]。

2.2 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在胰腺的表达 Chappell等^[11]在发现犬胰腺局部Ang II、血管紧张素原时,亦检测到发现胰腺组织局部Ang II、Ang

■ 相关报道

Wang等的研究显示在雨蛙素诱导的小鼠重症AP模型中胰腺局部ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的各组分的表达显著上调,这是该轴在AP表达的较新报道。

■创新盘点

本文从肾素血管紧张素系统两大轴与AP的关系入手,综述了其AP调控作用,探讨抑制或上调该系统两大轴对AP的所产生的保护作用。

III及Ang-(1-7)的表达高于血浆浓度数倍。Bindom等^[40,41]研究也证实ACE2和Mas受体亦存在小鼠胰腺中,且胰腺局部ACE、ACE2表达失衡与胰岛β细胞功能障碍和糖代谢紊乱相关。郭丽敏等^[42]用免疫电镜方法检测到ACE2在大鼠胰腺内、外分泌腺均有表达,ACE2在胰腺内分泌腺表达非常弱,在胰腺外分泌腺呈较强表达。周琳等^[43]在研究ACE2和ACE在人胰腺癌组织中的表达情况及相互关系时,发现ACE2和ACE蛋白均主要表达于胰腺导管细胞或胰腺导管癌细胞浆,ACE2在胰腺癌中的转录和蛋白水平均明显下调,且与ACE呈负相关。Wang等^[44]近期在小鼠重症AP模型观察到胰腺局部ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的各组分ACE2、Ang(1-7)、Mas受体的表达明显升高,血浆Ang(1-7)的水平在造模后也明显升高。

2.3 ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在急性胰腺中的作用机制 越来越多的证据表明ACE2-Ang(1-7)-Mas轴的众多保护性生物学作用是通过ACE-Ang II-AT1R轴的负性调节表现出来的^[45]。ACE2水解Ang II的产物Ang(1-7)能拮抗Ang II的作用,因此ACE2是RAS中起负调节作用的金属蛋白酶。研究证明ACE2的高表达可负向调节Ang II导致的NADPH氧化酶的活性、炎症和单核细胞的黏附表达^[46-48]。Sampaio等^[49]的研究也证实Ang-(1-7)通过其特异性

Mas受体介导了依赖蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)途径磷酸化,刺激一氧化氮的产生,拮抗Ang II引起的外周缩血管效应。Ang-(1-7)与Mas结合后亦可抑制Ang II引起的MAPK磷酸化来发挥保护作用^[50]。da Silveira等^[51]研究发现Mas受体激动剂AVE0991可以减轻关节炎大鼠的炎性细胞的聚集, TNF-α、IL-1β等细胞因子的产生。张雪莲等^[52]发现肥胖自发性糖尿病大鼠(otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF)大鼠胰岛细胞Mas在mRNA及蛋白水平均显著低于同种系同龄糖耐量正常(long-evans tokushima otsuka, LETO)大鼠, ACE2 mRNA及蛋白水平仅呈现下降趋势,说明Mas缺失导致大鼠出现葡萄糖耐量异常和胰岛素敏感性下降,提示Mas受体在胰岛素抵抗发生和发展中的作用。近年有报道应用Mas受体阻断剂可观察到第一时相胰岛素分泌缺失, Mas缺失小鼠呈现内皮细胞功能受损NO产生减少^[53]。Wang等^[44]在小鼠重症AP中发现ACE2、Mas受体基因及蛋白表达上调,故推测ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在AP的发生发展过

程中也起到一定的保护作用,能对抗RAS经典轴ACE-Ang II-AT1R的损伤作用。因此Ang(1-7)是Ang II天然的拮抗剂,在机体内大多数通过作用于特异性受体Mas从而引起其下游一些细胞因子如缓激肽、前列腺素、转化生长因子-β、巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory, MIF)、葡萄糖转运子-4等表达量和活性变化来发挥舒张血管、抗纤维化、抗炎、利尿、降血压、改善心脏功能、保护血管内皮、增加胰岛素敏感性等生物学效应^[54]。但目前ACE2-Ang(1-7)-Mas轴在AP的研究报道相对较少,需要进一步深入通过基因敲除、转导等生物技术或运用该轴激动剂及拮抗剂等方法来深入研究ACE2-Ang(1-7)-Mas轴对胰腺炎损伤保护作用潜能。

3 结论

近年来通过新的生物技术方法发现胰腺RAS组分在不同物种和离体细胞表达情况不甚相同。随着对胰腺等局部组织器官RAS的深入研究,其新成员的不断增多,形成了一多元系统,其不同分支点在RAS的不同位点发挥着不同作用,从而在AP等胰腺相关疾病的发生发展过程中发挥着相应的保护或加重损伤作用。那么,可从蛋白基因水平对RAS的缺陷或过度作用进行调控,同时亦可应用RAS抑制剂或激动剂作用于其不同位点发挥抑制或促进作用,如: (1)血管紧张素转换酶抑制减少血管紧张素 I 向血管紧张素 II 转化; (2)血管紧张素 II 受体拮抗剂阻断血管紧张素 II 的作用; (3)肾素抑制剂则从源头上阻断RAS,有效减少Ang I、Ang II的生成,亦抑制肾素或前肾素与前肾素/肾素受体结合后的催化活性^[55]; (4)Ang(1-7)非肽类似物如AVE0991作用于MAS受体,起到与Ang(1-7)同样的保护作用; (5)糜蛋白酶抑制剂减少依赖糜蛋白酶的Ang II生成途径。因此,针对胰腺RAS不同分轴的调控,将为胰腺炎的治疗提供一条新的思路。

4 参考文献

- 1 Danser AH. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 759-768 [PMID: 12676161 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00178-4]
- 2 Leung PS, Chappell MC. A local pancreatic renin-angiotensin system: endocrine and exocrine roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 838-846 [PMID: 12676170 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00179-6]
- 3 Leung PS, Carlsson PO. Tissue renin-angiotensin system: its expression, localization, regulation and

- potential role in the pancreas. *J Mol Endocrinol* 2001; 26: 155-164 [PMID: 11432370 DOI: 10.1677/jme.0.0260155]
- 4 Thatcher S, Yiannikouris F, Gupte M, Cassis L. The adipose renin-angiotensin system: role in cardiovascular disease. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 302: 111-117 [PMID: 19418627 DOI: 10.1016/j.mce.2009.01.019]
- 5 Miyazaki M, Takai S, Jin D, Muramatsu M. Pathological roles of angiotensin II produced by mast cell chymase and the effects of chymase inhibition in animal models. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 668-676 [PMID: 16837049 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.05.008]
- 6 Saris JJ, 't Hoen PA, Garredts IM, Dekkers DH, den Dunnen JT, Lamers JM, Jan Danser AH. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. *Hypertension* 2006; 48: 564-571 [PMID: 16940215 DOI: 10.1161/01.HYP.0000240064.19301.1b]
- 7 Feldt S, Batenburg WW, Mazak I, Maschke U, Wellner M, Kvakan H, Dechend R, Fiebeler A, Burckle C, Contrepas A, Jan Danser AH, Bader M, Nguyen G, Luft FC, Muller DN. Prorenin and renin-induced extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in monocytes is not blocked by aliskiren or the handle-region peptide. *Hypertension* 2008; 51: 682-688 [PMID: 18212269 DOI: 10.1161/HYPERTENSION.107.101444]
- 8 Cheng Q, Leung PS. An update on the islet renin-angiotensin system. *Peptides* 2011; 32: 1087-1095 [PMID: 21396973 DOI: 10.1016/j.peptides.2011.03.003]
- 9 Leung PS. The physiology of a local renin-angiotensin system in the pancreas. *J Physiol* 2007; 580: 31-37 [PMID: 17218353 DOI: 10.1113/jphysiol.2006.126193]
- 10 Battle D, Jose Soler M, Ye M. ACE2 and diabetes: ACE of ACEs? *Diabetes* 2010; 59: 2994-2996 [PMID: 21115782 DOI: 10.2337/db10-1205]
- 11 Chappell MC, Millsted A, Diz DI, Brosnihan KB, Ferrario CM. Evidence for an intrinsic angiotensin system in the canine pancreas. *J Hypertens* 1991; 9: 751-759 [PMID: 1655885 DOI: 10.1097/00004872-199108000-00008]
- 12 Chappell MC, Diz DI, Gallagher PE. The renin-angiotensin system and the exocrine pancreas. *JOP* 2001; 2: 33-39 [PMID: 11862020]
- 13 Leung PS, Chan WP, Wong TP, Sernia C. Expression and localization of the renin-angiotensin system in the rat pancreas. *J Endocrinol* 1999; 160: 13-19 [PMID: 9854172 DOI: 10.1677/joe.0.1600013]
- 14 Lam KY, Leung PS. Regulation and expression of a renin-angiotensin system in human pancreas and pancreatic endocrine tumours. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 567-572 [PMID: 11916627 DOI: 10.1530/eje.0.1460567]
- 15 Ramracheya RD, Muller DS, Wu Y, Whitehouse BJ, Huang GC, Amiel SA, Karalliedde J, Viberti G, Jones PM, Persaud SJ. Direct regulation of insulin secretion by angiotensin II in human islets of Langerhans. *Diabetologia* 2006; 49: 321-331 [PMID: 16416272 DOI: 10.1007/s00125-005-0101-7]
- 16 Shimizu K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis. *J Gastroenterol* 2008; 43: 823-832 [PMID: 19012035 DOI: 10.1007/s00535-008-2249-7]
- 17 Chan YC, Leung PS. Acute pancreatitis: animal models and recent advances in basic research. *Pancreas* 2007; 34: 1-14 [PMID: 17198179 DOI: 10.1097/01.mpa.0000246658.38375.04]
- 18 Leung PS, Chan WP, Nobiling R. Regulated expression of pancreatic renin-angiotensin system in experimental pancreatitis. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 166: 121-128 [PMID: 10996430 DOI: 10.1016/S0303-7207(00)00275-6]
- 19 Cuthbertson CM, Christophi C. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 518-530 [PMID: 16607683 DOI: 10.1002/bjs.5316]
- 20 Guilly C, Brégeon J, Toumaniantz G, Rolli-Derkinderen M, Retailleau K, Loufrani L, Henrion D, Scalbert E, Bril A, Torres RM, Offermanns S, Pacaud P, Loirand G. The Rho exchange factor Arhgef1 mediates the effects of angiotensin II on vascular tone and blood pressure. *Nat Med* 2010; 16: 183-190 [PMID: 20098430 DOI: 10.1038/nm.2079]
- 21 Carlsson PO, Berne C, Jansson L. Angiotensin II and the endocrine pancreas: effects on islet blood flow and insulin secretion in rats. *Diabetologia* 1998; 41: 127-133 [PMID: 9498644 DOI: 10.1007/s001250050880]
- 22 Tsang SW, Ip SP, Leung PS. Prophylactic and therapeutic treatments with AT 1 and AT 2 receptor antagonists and their effects on changes in the severity of pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 330-339 [PMID: 14643897 DOI: 10.1016/S1357-2725(03)00257-7]
- 23 Ip SP, Kwan PC, Williams CH, Pang S, Hooper NM, Leung PS. Changes of angiotensin-converting enzyme activity in the pancreas of chronic hypoxia and acute pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 944-954 [PMID: 12676178 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00181-4]
- 24 Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 881-900 [PMID: 12676174 DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00271-6]
- 25 倪银, 吴建胜, 方佩佩, 吴秀玲, 孙学成, 贾国葆, 张仁再. 重症急性胰腺炎大鼠肝损伤机制及褪黑素保护. *中华医学杂志* 2008; 88: 2867-2871
- 26 Brasier AR, Recinos A, Eledrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1257-1266 [PMID: 12171785 DOI: 10.1161/01.ATV.0000021412.56621.A2]
- 27 Oruc N, Ozutemiz AO, Yukselen V, Nart D, Celik HA, Yuce G, Batur Y. Infliximab: a new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004; 28: e1-e8 [PMID: 14707742 DOI: 10.1097/00006676-200401000-00020]
- 28 Pupilli C, Lasagni L, Romagnani P, Bellini F, Mannelli M, Misciglia N, Mavilia C, Vellei U, Villari D, Serio M. Angiotensin II stimulates the synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 245-255 [PMID: 10215323]
- 29 Williams B, Baker AQ, Gallacher B, Lodwick D. Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 25: 913-917 [PMID: 7737726 DOI: 10.1161/01.HYP.25.5.913]
- 30 Chan YC, Leung PS. AT1 receptor antagonism ameliorates acute pancreatitis-associated pulmonary injury. *Regul Pept* 2006; 134: 46-53 [PMID: 16443293 DOI: 10.1016/j.regpep.2005.12.001]

■应用要点

肾素-血管紧张素系统为一多元系统,在AP的发生发展过程中,其不同分支点的组分与不同受体结合对胰腺起着保护或加重损伤的作用。因此,应用该系统不同分支位点的抑制剂或激动剂作用于其受体,为AP的治疗提供了一条新思路。

■同行评价

本文总结了肾素-血管紧张素系统两大分支轴与AP的关系。对AP的发生发展提出了新的发病机制。同时为胰腺炎的治疗提供了新靶点,有理论意义与临床价值。

- 31 Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000; 87: 1195-1201 [PMID: 11110778 DOI: 10.1161/01.RES.87.12.1195]
- 32 Leung PS. Local renin-angiotensin system in the pancreas: the significance of changes by chronic hypoxia and acute pancreatitis. *JOP* 2001; 2: 3-8 [PMID: 11862015]
- 33 Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yildirim A, Korkmaz A, Akay C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D. The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Physiol Res* 2003; 52: 111-116 [PMID: 12625815]
- 34 Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, Lapatto R, Nurminen K, Vapaatalo H, Müller DN, Fiebler A, Ganten U, Ganten D, Luft FC. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension* 2001; 37: 414-418 [PMID: 11230310 DOI: 10.1161/01.HYP.37.2.414]
- 35 Li W, Moore MJ, Vasileva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaran M, Sullivan JL, Luzuriaga K, Greenough TC, Choe H, Farzan M. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003; 426: 450-454 [PMID: 14647384 DOI: 10.1038/nature02145]
- 36 Vaz-Silva J, Carneiro MM, Ferreira MC, Pinheiro SV, Silva DA, Silva-Filho AL, Witz CA, Reis AM, Santos RA, Reis FM. The vasoactive peptide angiotensin-(1-7), its receptor Mas and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human endometrium. *Reprod Sci* 2009; 16: 247-256 [PMID: 19164480 DOI: 10.1177/1933719108327593]
- 37 Schindler C, Bramlage P, Kirch W, Ferrario CM. Role of the vasodilator peptide angiotensin-(1-7) in cardiovascular drug therapy. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3: 125-137 [PMID: 17583183]
- 38 Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SV, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8258-8263 [PMID: 12829792 DOI: 10.1073/pnas.1432869100]
- 39 Kostenis E, Milligan G, Christopoulos A, Sanchez-Ferrer CF, Heringer-Walther S, Sexton PM, Gembardt F, Kellett E, Martini L, Vanderheyden P, Schultheiss HP, Walther T. G-protein-coupled receptor Mas is a physiological antagonist of the angiotensin II type 1 receptor. *Circulation* 2005; 111: 1806-1813 [PMID: 15809376 DOI: 10.1161/01.CIR.0000160867.23556.7D]
- 40 Bindom SM, Lazartigues E. The sweeter side of ACE2: physiological evidence for a role in diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 302: 193-202 [PMID: 18948167 DOI: 10.1016/j.mce.2008.09.020]
- 41 Bindom SM, Hans CP, Xia H, Boulares AH, Lazartigues E. Angiotensin I-converting enzyme type 2 (ACE2) gene therapy improves glycemic control in diabetic mice. *Diabetes* 2010; 59: 2540-2548 [PMID: 20660625 DOI: 10.2337/db09-0782]
- 42 郭丽敏, 林珊珊, 杨金奎. 血管紧张素转换酶2在鼠胰腺组织中的表达. 实用医学杂志 2010; 26: 2708-2710
- 43 周琳, 张连峰, 姚玮艳, 赵阿红, 袁耀宗. 血管紧张素转换酶 II 与血管紧张素转化酶在胰腺癌组织中的表达水平变化及相互关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 671-674
- 44 Wang Y, Wang J, Liu R, Qi H, Wen Y, Sun F, Yin C. Severe acute pancreatitis is associated with upregulation of the ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas axis and promotes increased circulating angiotensin-(1-7). *Pancreatol* 2012; 12: 451-457 [PMID: 23127535 DOI: 10.1016/j.pan.2012.07.017]
- 45 Santos RA, Ferreira AJ, Simões E Silva AC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis. *Exp Physiol* 2008; 93: 519-527 [PMID: 18310257 DOI: 10.1113/expphysiol.2008.042002]
- 46 Tikellis C, Bernardi S, Burns WC. Angiotensin-converting enzyme 2 is a key modulator of the renin-angiotensin system in cardiovascular and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 62-68 [PMID: 21099686 DOI: 10.1097/MNH.0b013e328341164a]
- 47 Oudit GY, Kassiri Z, Patel MP, Chappell M, Butany J, Backx PH, Tsushima RG, Scholey JW, Khokha R, Penninger JM. Angiotensin II-mediated oxidative stress and inflammation mediate the age-dependent cardiomyopathy in ACE2 null mice. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 29-39 [PMID: 17499227 DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.04.007]
- 48 Dong B, Zhang YH, Dong QL, Yu QT, Zhu L, Li SY, Yang YP, Zhang C, Feng JB, Liu CX, Song HD, Pan CM, Zhang Y. [Overexpression of angiotensin converting enzyme 2 inhibits inflammatory response of atherosclerotic plaques in hypercholesterolemic rabbits]. *Zhonghua Xinxueguanbing Zazhi* 2009; 37: 622-625 [PMID: 19961735]
- 49 Sampaio WO, Souza dos Santos RA, Faria-Silva R, da Mata Machado LT, Schifffrin EL, Touyz RM. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertension* 2007; 49: 185-192 [PMID: 17116756 DOI: 10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f]
- 50 Giani JF, Gironacci MM, Muñoz MC, Turyn D, Dominici FP. Angiotensin-(1-7) has a dual role on growth-promoting signalling pathways in rat heart in vivo by stimulating STAT3 and STAT5a/b phosphorylation and inhibiting angiotensin II-stimulated ERK1/2 and Rho kinase activity. *Exp Physiol* 2008; 93: 570-578 [PMID: 18448663 DOI: 10.1113/expphysiol.2007.014269]
- 51 da Silveira KD, Coelho FM, Vieira AT, Sachs D, Barroso LC, Costa VV, Bretas TL, Bader M, de Sousa LP, da Silva TA, dos Santos RA, Simões e Silva AC, Teixeira MM. Anti-inflammatory effects of the activation of the angiotensin-(1-7) receptor, MAS, in experimental models of arthritis. *J Immunol* 2010; 185: 5569-5576 [PMID: 20935211 DOI: 10.4049/jimmunol.1000314]
- 52 张雪莲, 史婷婷, 尚军, 王阳, 杨金奎. 糖尿病大鼠胰腺血管紧张素受体Mas表达降低. 基础医学与临床 2013; 2: 166-171
- 53 Iwai M, Nakaoka H, Senba I, Kanno H, Moritani T, Horiuchi M. Possible involvement of angiotensin-converting enzyme 2 and Mas activation in inhibitory effects of angiotensin II Type 1 receptor blockade on vascular remodeling. *Hypertension* 2012; 60: 137-144 [PMID: 22665126 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.191452]
- 54 Oliveira MA, Carvalho MH, Nigro D, Passaglia Rde

C, Fortes ZB. Angiotensin-(1-7) and bradykinin interaction in diabetes mellitus: in vivo study. *Peptides* 2002; 23: 1449-1455 [PMID: 12182946 DOI: 10.1016/S0196-9781(02)00080-3]

55 Batenburg WW, de Bruin RJ, van Gool JM, Müller

DN, Bader M, Nguyen G, Danser AH. Aliskiren-binding increases the half life of renin and prorenin in rat aortic vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1151-1157 [PMID: 18388329 DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.164210]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展

王娜, 姜慧卿

■背景资料

梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)是临床常见病,动物和临床实验均证实存在不同程度的肠黏膜屏障损伤,其导致肠道细菌及内毒素移位,继而发生内源性感染及多器官损伤,亦是OJ的术后并发症发生率及死亡率居高不下的主要原因,具体机制尚未明确。

王娜, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市050000

王娜, 副教授, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由王娜完成; 姜慧卿负责审校。

通讯作者: 姜慧卿, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室: jianghq@aliyun.com
电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-06-20 修回日期: 2013-07-10

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice

Na Wang, Hui-Qing Jiang

Na Wang, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Hui-Qing Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. jianghq@aliyun.com

Received: 2013-06-20 Revised: 2013-07-10

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract

Intestinal mucosal barrier is a key structure that normally prevents the passage of harmful molecules across the mucosa and into the circulation, including mechanical barrier, immunological barrier, biological barrier and chemical barrier. Obstructive jaundice (OJ) is frequently associated with infectious complications, mainly due to sepsis and renal dysfunction. The key events in the pathophysiology of these complications are endotoxemia of gut origin and increased intestinal permeability because of intestinal barrier dysfunction, as demonstrated in experimental and clinical studies. However, the mechanisms involved in this phenomenon remain obscure. Here we review recent progress in understanding the pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in OJ.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Obstructive jaundice; Intestinal mucosal barrier; Endotoxemia; Tight junction

Wang N, Jiang HQ. Pathogenesis of intestinal barrier dysfunction in obstructive jaundice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2668-2673 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2668>

摘要

肠黏膜屏障具有机械屏障、化学屏障、生物屏障、免疫屏障等功能,是防止肠道内的有害物质和病原体进入机体内环境,维持内环境稳定的一道重要屏障。梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)患者病死率和并发症发生率居高不下,主要原因是败血症和肾功能衰竭。临床与基础研究证实OJ存在肠黏膜屏障损伤,其主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加、肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症,具体机制尚未明确。本文对OJ引起的肠黏膜屏障损伤的病理生理机制作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 梗阻性黄疸; 肠黏膜屏障; 内毒素血症; 紧密连接

核心提示: 梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)患者病死率和并发症发生率居高不下,主要原因是肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应。病理生理学研究证实了肠道屏障功能的破坏是多因素的,包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏,具体机制尚未明确,而肠黏膜紧密连接(tight junction)蛋白的表达变化,氧化应激和细胞增殖与凋亡的失调可能在OJ肠黏膜屏障损伤中起关键作用。

王娜, 姜慧卿. 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤病理生理机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2668-2673 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2668>

0 引言

梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ)是临床常见

■同行评议者

度必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

病,近十几年缓解黄疸的外科手术和内镜治疗手段虽然有了很大的提高,但是患者病死率和并发症发生率仍然居高不下,严重者出现肾衰竭和败血症^[1,2],其主要病理生理机制是由于OJ时肠黏膜屏障受损所致肠黏膜通透性增加,而其伴随的肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症是促成肠道屏障功能障碍发生的关键因素^[3-5]。目前国内外对OJ肠黏膜上皮屏障损伤发病机制的研究很多,但尚无统一结论,本文就其病理生理机制作一综述。

1 肠黏膜屏障结构和功能

胃肠黏膜不仅仅具有消化吸收的功能,还是人体一道重要的自然屏障。肠黏膜屏障由肠上皮层、黏液层、肠道淋巴系统、肠道菌群和肠-肝轴等组成,具有机械屏障、化学屏障、生物屏障和免疫屏障等功能,是防止肠道内的有害物质和病原体进入机体内环境,维持内环境稳定的一道重要屏障^[6]。

2 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤改变

2.1 机械屏障受损 肠黏膜机械屏障是由肠黏膜上皮间的紧密连接(tight junction, TJ)、上皮细胞及其分泌的黏液、表面的菌膜等组成,共同构成了一道肠道内毒素和细菌不能自由逾越的物理屏障。环绕黏膜上皮细胞顶侧的TJ是维持肠上皮屏障功能的重要结构基础,是决定肠上皮细胞间通透性的决定因素。肠上皮细胞TJ一旦发生变异、减少或缺失,肠上皮细胞间隙通透性就会增加,细菌、内毒素及大分子物质就可通过TJ进入体循环。因此,TJ在肠黏膜屏障功能中的作用至关重要^[7-9]。现已发现有40多种肠黏膜上皮细胞TJ的相关蛋白,跨膜蛋白Occludin和Claudin相互作用封闭细胞间隙,在细胞内与胞浆蛋白ZO(sZO-1/2/3)相连;ZO属于胞浆蛋白,其对TJ的形成起装配平台样作用,构成稳定连接。动物实验已证实与假手术组相比,OJ大鼠小肠黏膜上皮存在功能障碍,并同时伴随肠上皮TJ蛋白Occludin、ZO-1的表达减低及分布出现区域性缺失^[10,11]。我们首次研究了OJ患者存在小肠黏膜组织学损伤和肠源性内毒素血症;透射电镜下肠黏膜微绒毛明显稀疏,连接复合体结构破坏,细胞TJ增宽,肠黏膜上皮细胞TJ蛋白Occludin、ZO-1、Claudin-1表达减弱,Claudin-4增加,这可能是OJ肠黏膜屏障损伤、通透性增加的重要因素^[12]。Assimakopoulos等^[13]的一项临

床研究与我们的研究结果一致,且证实TJ蛋白表达出现区域分布改变。

2.2 化学屏障受损 肠黏膜化学屏障包括消化分泌的胃酸、溶菌酶、粘多糖和胰酶、胆盐等组成。肠道胆盐的存在对正常肠黏膜屏障起重要作用,它能够促进黏膜生长和修复,对肠黏膜还有营养作用,可以增加绒毛密度,诱导肠壁组织细胞生长。体外实验证实胆汁酸通过c-myc依赖途径促进肠上皮细胞增殖,阻止核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)活化诱导的凋亡^[14,15]。OJ时由于胆汁缺乏,导致肠黏膜组织形态学改变和肠肌电活动减弱,经胆盐补充后其指标明显改善^[16]。Raimondi等^[17]用单层小肠上皮细胞培养体外实验研究证实不同浓度胆盐通过激活表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),从而使肠黏膜上皮TJ蛋白表达增加。另外胆盐可清除细菌的活性,使细菌胞壁通透性增高,最终致细胞损伤和细菌膜碎裂^[18],胆盐还可直接与肠腔内毒素和细菌黏附生成不吸收的去垢剂样复合物,使内毒素裂解失活,进而防止肠道内毒素和细菌移位^[6]。

2.3 生物屏障受损 肠道生物屏障由相当稳定比例的肠道内自身菌群与肠道黏膜结合,与机体形成一个相互依赖又相互制约的微生态平衡系统^[6]。OJ时由于胆汁酸缺乏导致肠道菌群失衡,以肠杆菌为代表的革兰阴性菌过度生长^[3-5]。动物及临床实验证实致病的大肠杆菌黏附至OJ肠道上皮单层细胞,TJ出现断裂导致肠屏障损伤^[19,20]。Geyik等^[21]研究发现布拉酵母菌灌胃能明显改善OJ大鼠肠道菌群,还可明显修复小肠黏膜损伤,降低致病菌移位。Zhou等^[10]报导OJ大鼠应用乳酸菌灌胃可通过蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)信号转导途径缓解肠黏膜氧化应激损伤,抑制细胞凋亡,改善肠黏膜通透性。周龙翔等^[22]证实OJ患者围手术期服用益生菌后发现患者尿乳果糖/甘露醇(lactulose/mannitol, L/M)比值较对照组明显下降,表明益生菌可以明显改善OJ肠黏膜通透性和肠道微生态环境。

2.4 免疫屏障受损 肠黏膜免疫屏障由肠黏膜分泌的IgA和肠相关淋巴组织等构成。大多数肠道中IgA是以sIgA的形式存在的,可起到抑制肠道细菌黏附、阻止细菌定植、抑制抗原吸收和中和毒素等作用。肠道内90%的IgA是由胆汁携带而分泌到肠腔的,缺乏胆汁就意味着肠道内缺少了绝大部分的IgA,也就失去了IgA对肠黏膜的保护。另研究表明胆汁中还包含特异或非特

■研究前沿

OJ肠黏膜屏障损伤主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加,而其伴随的肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症是促成肠道屏障功能障碍发生的关键因素。

■相关报道

OJ肠黏膜屏障功能障碍病理生理学研究证实了肠道屏障功能的破坏是多因素的,包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏,其主要病理生理机制是肠黏膜通透性增加、肠黏膜上皮氧化应激损伤及肠源性内毒素血症。

异的抗体,抑制肠道内细菌与肠黏膜的黏附或抑制细菌被上皮细胞摄取而防止细菌转移^[19],所以胆汁对肠道的免疫功能也起着非常重要的作用。OJ时肠道的免疫功能下降,防御能力减弱。实验研究表明胆汁影响肠道淋巴组织的分布,胆汁缺乏时导致CD4⁺和CD8⁺ T淋巴细胞数量的减少和趋化因子TECK/CCL25的表达降低,胆汁内引流后可以明显改善淋巴细胞的归巢^[23]。另外Ogawa等^[24]证实OJ大鼠可能依赖Toll样受体-2(Toll-like receptors-2, TLR-2)途径促进细胞凋亡,从而导致Payer淋巴小结内的B淋巴细胞减少。

3 梗阻性黄疸肠黏膜屏障损伤机制

3.1 肠黏膜上皮通透性增加 肠黏膜通透性是指肠黏膜上皮容易被某些分子物质以简单扩散的方式通过的特性。早在肠黏膜形态学出现明显变化之前,肠黏膜通透性已经增高。所以,肠黏膜通透性的改变可早期反映肠黏膜屏障功能受损程度^[25]。实验和临床研究已经证实OJ时存在肠源性细菌和内毒素血症移位至肠系膜淋巴细胞、体循环和肝脏,其最主要因素是肠黏膜通透性增加^[3-5]。肠黏膜上皮,尤其封闭肠上皮细胞顶端间隙的TJ是决定肠黏膜通透性最重要的因素。正常情况下肠腔内细菌及大分子毒素不能透过肠壁进入全身脏器和组织,这有赖于肠道的屏障功能的完整。临床研究中通过测定人尿L/M比值透过实验、门脉内毒素浓度、不同部位细菌培养证实肠道菌群移位,以反映患者肠黏膜通透性的变化^[26]。我们的研究发现,OJ患者小肠黏膜通透性明显增加^[12]。实验研究发现在普通光镜下观察,OJ大鼠肠黏膜组织学损伤无明显形态学改变,但电镜下可发现炎症水肿、肠上皮间隙扩大、线粒体损伤及细菌过度生长等,还有肠黏膜下水肿、绒毛稀少和黏膜层与固有层分离等非特异性损伤表现,而予蜂蜜干预后上述改变明显改善^[27]。

3.2 肠黏膜上皮氧化应激损伤 肠黏膜氧化应激反应(oxidative stress)可能是导致OJ肠黏膜屏障损伤和通透性增高的一个关键因素。OJ导致内毒素血症、细菌移位及大量炎性介质释放,诱生型一氧化氮合酶表达增强,使肠腔组织或细胞内产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积而引起的氧化损伤。大量的动物和临床试验均已证实OJ可诱发肠黏膜氧化应激损伤,表现为肠道中脂质过氧化、蛋白氧化增强,蛋白质、非蛋白巯基化合物或二硫化物比例失

调^[5,28-32]。OJ大鼠给予抗氧化剂灌胃后,可以恢复肠黏膜的氧化应激状态,阻止肠黏膜细胞的凋亡、促进细胞增殖、恢复TJ蛋白表达,从而增强肠黏膜屏障功能^[26]。肠上皮细胞增值下降、凋亡增加是OJ肠黏膜上皮屏障功能损伤的另一重要因素。氧化应激可促进肠黏膜细胞凋亡,抑制细胞增殖,破坏细胞膜及膜蛋白结构,导致OJ肠黏膜萎缩。应用肝外胆汁淤积大鼠模型给予抗氧化剂谷氨酰胺和姜黄素灌胃可以明显缓解大鼠肠黏膜的氧化应激状态,并改善肠黏膜屏障功能及肠道菌群平衡^[33]。Assimakopoulos等^[34]研究证实OJ大鼠肠黏膜萎缩,氧化应激损伤明显,同时伴随隐窝上皮细胞有丝分裂明显降低,同时细胞凋亡增加,应用不同的抗氧化剂(乙酰半胱氨酸,别嘌呤醇,维生素E)干预,可通过影响巯基氧化还原状态提高肠黏膜的抗氧化作用,改善肠黏膜屏障功能,防止发生内毒素血症。最近报道给予OJ大鼠抗氧化剂硫辛酸,对其肠道起到有效的抗氧化效应,从而提高肠黏膜屏障功能^[35]。我们研究结果显示,OJ患者肠黏膜组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平升高,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平下降,肠黏膜上皮细胞凋亡增加,说明在OJ时肠道存在脂质过氧化损伤及抗氧化能力下降,随着胆道梗阻的不断进展肠黏膜上皮细胞凋亡逐渐增加,由此引起的组织结构破坏,削弱了肠道屏障功能^[31]。最近一项研究也证实了OJ患者小肠黏膜上皮细胞增殖指标Ki67较对照组明显降低,凋亡指数明显增高^[36]。

3.3 肠源性内毒素血症及炎症介质反应 淤胆导致肝脏枯否细胞清除能力下降^[37-39],使细菌及其内毒素从门脉“逃逸”至体循环,进而引起炎性细胞因子“瀑布样”效应,即“肠源性内毒素血症”^[3-5]。门脉和体循环过多的细胞因子和其他促炎介质的释放,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素-1(interleukin, IL-1)、IL-6、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ), NO和氧自由基对TJ的结构和功能产生破坏,从而进一步影响OJ肠黏膜屏障功能^[3,40-44]。有研究指出TNF- α 和IFN- γ 等细胞因子可通过上调人TJ蛋白Claudin-4启动子活性、下调Claudin-1、-5和-7表达,破坏肠黏膜屏障^[45]。内毒素的主要成分脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), LPS与血清中内毒素结合蛋白结合并与CD14共同形成三者的复合物,与受体共同参与信号转导,从而诱导TNF- α 、IL-6等细胞因子表达,并产生各种病

理损害。TLR4是LPS跨膜信号转导最重要的受体,是炎症反应链的启动点,可以影响整个病理损伤过程^[46,47]。Miyaso等^[48]研究证实LPS可上调OJ小鼠肠黏膜组织及门脉血的TLR-4 mRNA和CD14 mRNA水平,进一步加重肠黏膜屏障的损伤。而且内毒素血症致内脏血流减少、引起肠道微循环障碍,进一步导致肠黏膜上皮细胞能量缺失及缺血、缺氧状态,细胞线粒体和溶酶体损伤,甚至细胞自溶,最终引起肠黏膜功能损害^[49,50]。Rabaev等^[51]报道OJ患者存在内毒素血症和肠道菌群失衡,胆道减压并联合应用乳果糖干预7 d后患者内毒血症、肠道菌群失衡状态得到明显改善。

4 结论

对OJ肠黏膜屏障功能障碍的病理生理学的深入研究,进一步证实了肠道屏障功能破坏是多因素的,包括机械、生物、化学、免疫屏障的破坏。肠黏膜TJ蛋白的变化、氧化应激和细胞增殖与凋亡失调在OJ肠黏膜屏障损伤中起关键作用。因此,在临床工作中患者解除黄疸前后应同时保护肠黏膜屏障功能,因为肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应可能导致严重的甚至危及生命的并发症。

5 参考文献

- 1 Brandoni A, Hazelhoff MH, Bulacio RP, Torres AM. Expression and function of renal and hepatic organic anion transporters in extrahepatic cholestasis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6387-6397 [PMID: 23197884 DOI: 10.3748/wjg.v18.i44.6387]
- 2 Park SY, Park CH, Cho SB, Lee WS, Kim JC, Cho CK, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS. What is appropriate procedure for preoperative biliary drainage in patients with obstructive jaundice awaiting pancreaticoduodenectomy? *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2011; 21: 344-348 [PMID: 22002271 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3182318d2f]
- 3 Badger SA, Jones C, McCaigue M, Clements BW, Parks RW, Diamond T, McCallion K, Taylor MA. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 25-32 [PMID: 22027701 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834b0dd3]
- 4 Jones C, Badger SA, Black JM, McFerran NV, Hoper M, Diamond T, Parks RW, Taylor MA. The use of antiendotoxin peptides in obstructive jaundice endotoxaemia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 248-254 [PMID: 22246330 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834dfb8c]
- 5 Bedirli A, Kerem M, Ofluoglu E, Salman B, Katircioglu H, Bedirli N, Yilmazer D, Alper M, Pasaoglu H. Administration of *Chlorella* sp. microalgae reduces endotoxaemia, intestinal oxidative stress and bacterial translocation in experimental biliary obstruction. *Clin Nutr* 2009; 28: 674-678 [PMID: 19589628 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.06.001]
- 6 Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 503-512 [PMID: 22583600 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x]
- 7 Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 631-659 [PMID: 22782113 DOI: 10.1007/s00018-012-1070-x]
- 8 Hossain Z, Hirata T. Molecular mechanism of intestinal permeability: interaction at tight junctions. *Mol Biosyst* 2008; 4: 1181-1185 [PMID: 19396381 DOI: 10.1039/b800402a]
- 9 Liu Z, Shi C, Yang J, Zhang P, Ma Y, Wang F, Qin H. Molecular regulation of the intestinal epithelial barrier: implication in human diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 2903-2909 [PMID: 21622211]
- 10 Zhou YK, Qin HL, Zhang M, Shen TY, Chen HQ, Ma YL, Chu ZX, Zhang P, Liu ZH. Effects of *Lactobacillus plantarum* on gut barrier function in experimental obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3977-3991 [PMID: 22912548 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.3977]
- 11 Wu L, Li W, Wang Z, Yuan Z, Hyder Q. Bile acid-induced expression of farnesoid X receptor as the basis for superiority of internal biliary drainage in experimental biliary obstruction. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 496-503 [PMID: 23410061 DOI: 10.3109/00365521.2012.763173]
- 12 Wang N, Yu H, Ma J, Wu W, Zhao D, Shi X, Tian H, Jiang H. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 191-199 [PMID: 20095884 DOI: 10.3109/00365520903406701]
- 13 Assimakopoulos SF, Tsamandas AC, Louvros E, Vagianos CE, Nikolopoulou VN, Thomopoulos KC, Charonis A, Scopa CD. Intestinal epithelial cell proliferation, apoptosis and expression of tight junction proteins in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 117-125 [PMID: 20840373 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02379.x]
- 14 Perrone EE, Liu L, Turner DJ, Strauch ED. Bile salts increase epithelial cell proliferation through HuR-induced c-Myc expression. *J Surg Res* 2012; 178: 155-164 [PMID: 22626558 DOI: 10.1016/j.jss.2012.02.029]
- 15 Turner DJ, Alaish SM, Zou T, Rao JN, Wang JY, Strauch ED. Bile salts induce resistance to apoptosis through NF-kappaB-mediated XIAP expression. *Ann Surg* 2007; 245: 415-425 [PMID: 17435549]
- 16 Keating N, Keely SJ. Bile acids in regulation of intestinal physiology. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 375-382 [PMID: 19765365]
- 17 Raimondi F, Santoro P, Barone MV, Pappacoda S, Barretta ML, Nanayakkara M, Apicella C, Capasso L, Paludetto R. Bile acids modulate tight junction structure and barrier function of Caco-2 monolayers via EGFR activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G906-G913 [PMID: 18239063 DOI: 10.1152/ajpgi.00043]
- 18 Duany RK, Batish VK, Grover S. Relative gene expression of bile salt hydrolase and surface proteins in two putative indigenous *Lactobacillus plantarum* strains under in vitro gut conditions. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 2541-2552 [PMID: 21674190 DOI: 10.1007/s11033-011-1006-9]

■应用要点

本文总结了OJ时肠黏膜屏障损伤的改变以及损伤的发生机制,为今后肠黏膜屏障功能障碍治疗提供了新的依据。临床工作中应该重视患者解除黄疸前后应同时保护肠黏膜屏障功能,因为肠黏膜屏障功能障碍以及随之而来的内毒素血症和全身炎症反应可能导致严重的甚至危及生命的并发症。

■同行评价

本文对于提高对OJ肠黏膜屏障损伤的认识、在临床工作中解除黄疸前后肠黏膜屏障功能的保护等有重要指导意义。

- 19 Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer RJ, Wells JM. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G851-G859 [PMID: 20224007 DOI: 10.1152/ajpgi.00327.2009]
- 20 Ahrne S, Hagslatt ML. Effect of lactobacilli on paracellular permeability in the gut. *Nutrients* 2011; 3: 104-117 [PMID: 22254077 DOI: 10.3390/nu3010104]
- 21 Geyik MF, Aldemir M, Hosoglu S, Ayaz C, Satilmis S, Buyukbayram H, Kokoglu OF. The effects of *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88: 176-180 [PMID: 16551414]
- 22 周龙翔, 程邦君, 谢容, 赵登秋. 益生菌对梗阻性黄疸患者肠黏膜屏障的影响. *中华临床医师杂志* 2012; 6: 4498-4499
- 23 Matsumoto T, Ajiki T, Kajiwara E, Mita Y, Fujita T, Morimoto H, Miyazawa M, Ku Y. Decreased expression of intestinal chemokine TECK/CCL25 in experimental obstructive jaundice and its reversal following internal biliary drainage. *J Gastroenterol* 2008; 43: 390-396 [PMID: 18592157 DOI: 10.1007/s00535-008-2173-x]
- 24 Ogawa A, Tagawa T, Nishimura H, Yajima T, Abe T, Arai T, Taniguchi M, Takeda K, Akira S, Nimura Y, Yoshikai Y. Toll-like receptors 2 and 4 are differentially involved in Fas dependent apoptosis in Peyer's patch and the liver at an early stage after bile duct ligation in mice. *Gut* 2006; 55: 105-113 [PMID: 16118350]
- 25 Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799-809 [PMID: 19855405 DOI: 10.1038/nri2653]
- 26 Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. *Altern Ther Health Med* 2013; 19: 12-24 [PMID: 23341423]
- 27 Gencay C, Kilicoglu SS, Kismet K, Kilicoglu B, Erel S, Muratoglu S, Sunay AE, Erdemli E, Akkus MA. Effect of honey on bacterial translocation and intestinal morphology in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3410-3415 [PMID: 18528939]
- 28 Yang J, Wu R, Zhou M, Wang P. Human adrenomedullin and its binding protein ameliorate sepsis-induced organ injury and mortality in jaundiced rats. *Peptides* 2010; 31: 872-877 [PMID: 20132852 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.01.010]
- 29 Grintzalis K, Papapostolou I, Assimakopoulos SF, Mavarakis A, Faropoulos K, Karageorgos N, Georgiou C, Chroni E, Konstantinou D. Time-related alterations of superoxide radical levels in diverse organs of bile duct-ligated rats. *Free Radic Res* 2009; 43: 803-808 [PMID: 19548155 DOI: 10.1080/10715760903062903]
- 30 Assimakopoulos SF, Thomopoulos KC, Patsoukis N, Georgiou CD, Scopa CD, Nikolopoulou VN, Vagianos CE. Evidence for intestinal oxidative stress in patients with obstructive jaundice. *Eur J Clin Invest* 2006; 36: 181-187 [PMID: 16506963]
- 31 王娜, 于惠玲, 姜慧卿, 马俊骥, 赵东强, 时晓东, 田慧. 血红素加氧酶-1在恶性梗阻性黄疸患者小肠黏膜氧化应激损伤中作用. *中华医学杂志* 2009; 48: 3401-3404
- 32 Assimakopoulos SF, Mavarakis AG, Grintzalis K, Papapostolou I, Zervoudakis G, Konstantinou D, Chroni E, Vagianos CE, Georgiou C. Superoxide radical formation in diverse organs of rats with experimentally induced obstructive jaundice. *Redox Rep* 2008; 13: 179-184 [PMID: 18647488 DOI: 10.1179/135100008X308902]
- 33 Karatepe O, Acet E, Battal M, Adas G, Kemik A, Altioek M, Kamali G, Koculu S, Catay A, Kamali S, Karahan S. Effects of glutamine and curcumin on bacterial translocation in jaundiced rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4313-4320 [PMID: 20818815]
- 34 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Vagianos CE. Pathophysiology of increased intestinal permeability in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6458-6464 [PMID: 18161914]
- 35 Somi MH, Kalageychi H, Hajipour B, Musavi G, Khodadadi A, Shokri N, Hashemi R, Bagheri I, Mutab Laleh F. Lipoic acid prevents hepatic and intestinal damage induced by obstruction of the common bile duct in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 1305-1310 [PMID: 23740441]
- 36 赵京飞, 陈强谱. 梗阻性黄疸患者肠黏膜上皮细胞增殖与凋亡的研究. *滨州医学院学报* 2012; 35: 175-180
- 37 Okaya T, Nakagawa K, Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Ito H, Miyazaki M. The alterations in hepatic microcirculation and Kupffer cell activity after biliary drainage in jaundiced mice. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 397-404 [PMID: 21866308 DOI: 10.1007/s00534-011-0435-0]
- 38 Okaya T, Nakagawa K, Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Morita Y, Miyazaki M. Obstructive jaundice impedes hepatic microcirculation in mice. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 2146-2150 [PMID: 19260494]
- 39 Abe T, Arai T, Ogawa A, Hiromatsu T, Masuda A, Matsuguchi T, Nimura Y, Yoshikai Y. Kupffer cell-derived interleukin 10 is responsible for impaired bacterial clearance in bile duct-ligated mice. *Hepatology* 2004; 40: 414-423 [PMID: 15368446]
- 40 Meng Y, Gong YC, Dou Y, Li W. Changes of serum cytokines and expression of inducible nitric oxide synthase mRNA by Kupffer cells after relief from obstructive jaundice in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1064-1069 [PMID: 19220682 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05746.x]
- 41 Abrahám S, Szabó A, Kaszaki J, Varga R, Eder K, Duda E, Lázár G, Tiszlavicz L, Boros M, Lázár G. Kupffer cell blockade improves the endotoxin-induced microcirculatory inflammatory response in obstructive jaundice. *Shock* 2008; 30: 69-74 [PMID: 18562926 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31815dceea]
- 42 Wang P, Gong G, Wei Z, Li Y. Ethyl pyruvate prevents intestinal inflammatory response and oxidative stress in a rat model of extrahepatic cholestasis. *J Surg Res* 2010; 160: 228-235 [PMID: 19628226 DOI: 10.1016/j.jss.2009.03.027]
- 43 Leventoglu S, Koksall H, Sancak B, Taneri F, Onuk E. The effect of calcitonin gene-related peptide on healing of intestinal anastomosis in rats with experimental obstructive jaundice. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 546-551 [PMID: 19365597 DOI: 10.1007/s00534-009-0098-27]
- 44 Wang ZK, Xiao JG, Huang XF, Gong YC, Li W. Effect of biliary drainage on inducible nitric oxide synthase, CD14 and TGR5 expression in obstructive jaundice rats. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2319-2330 [PMID: 23613625 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2319]
- 45 Amasheh M, Grotjohann I, Amasheh S, Fromm A, Söderholm JD, Zeitz M, Fromm M, Schulzke JD.

- Regulation of mucosal structure and barrier function in rat colon exposed to tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in vitro: a novel model for studying the pathomechanisms of inflammatory bowel disease cytokines. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1226-1235 [PMID: 19658020 DOI: 10.1080/00365520903131973]
- 46 Noreen M, Shah MA, Mall SM, Choudhary S, Hussain T, Ahmed I, Jalil SF, Raza MI. TLR4 polymorphisms and disease susceptibility. *Inflamm Res* 2012; 61: 177-188 [PMID: 22277994 DOI: 10.1007/s00011-011-0427-1]
- 47 Peri F, Piazza M. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists. *Biotechnol Adv* 2012; 30: 251-260 [PMID: 21664961 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.014]
- 48 Miyaso H, Morimoto Y, Ozaki M, Haga S, Shinoura S, Choda Y, Iwagaki H, Tanaka N. Obstructive jaundice increases sensitivity to lipopolysaccharide via TLR4 upregulation: possible involvement in gut-derived hepatocyte growth factor-protection of hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1859-1866 [PMID: 16336445]
- 49 Sonnier DI, Bailey SR, Schuster RM, Gangidine MM, Lentsch AB, Pritts TA. Proinflammatory chemokines in the intestinal lumen contribute to intestinal dysfunction during endotoxemia. *Shock* 2012; 37: 63-69 [PMID: 22089201 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31823cbff1]
- 50 Lehmann C, Pavlovic D, Zhou J, Wuttke U, Saeger D, Spassov A, Hung O, Cerny V, Witter T, Whynt S, Suchner U, Alteheld B, Stehle P, Gründling M. Intravenous free and dipeptide-bound glutamine maintains intestinal microcirculation in experimental endotoxemia. *Nutrition* 2012; 28: 588-593 [PMID: 22222295 DOI: 10.1016/j.nut.2011.09.0211]
- 51 Rabaev IB, Bekbaurov SA, Fialkina SV. [Effect of combined administration of bile duct decompression and lactulose in mechanical jaundice]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2012; (6): 85-89 [PMID: 23297639]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗

朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭朋

■背景资料

探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)作为微生物抗原, 其免疫原性和消化性溃疡、胃癌等的发生关系密切, 临床免疫根除治疗尤为重要。

朱振红, 中国中医科学院研究生院 北京市 100700
唐旭东, 王凤云, 郭朋, 中国中医科学院西苑医院 北京市 100091
朱振红, 主要从事中医内科学消化系统疾病方面的研究。
中医药行业科研专项基金资助项目, No. 201007006
作者贡献分布: 此课题由唐旭东与朱振红设计; 郭朋与王凤云参与评价; 论文写作由朱振红完成。
通讯作者: 唐旭东, 教授, 100091, 北京市海淀区西苑操场1号院, 中国中医科学院西苑医院。txdly@sina.com
收稿日期: 2013-04-23 修回日期: 2013-08-05
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori*: Implications for immunotherapy

Zhen-Hong Zhu, Xu-Dong Tang, Feng-Yun Wang, Peng Guo

Zhen-Hong Zhu, Graduate School, Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
Xu-Dong Tang, Feng-Yun Wang, Peng-Guo, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Supported by: the Special Fund of TCM Scientific Research, No. 201007006

Correspondence to: Xu-Dong Tang, Professor, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese, 1 Xiyuan Playground, Haidian District, Beijing 100091, China. txdly@sina.com
Received: 2013-04-23 Revised: 2013-08-05
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract

In this paper, we discuss immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and analyze their implications for immunotherapy. By reviewing related literature and comparing with conventional pure acid suppression, we analyze factors related to the eradication of *H. pylori* from an immunological point of view and put forward new hypotheses concerning the development of oral *H. pylori* vaccines.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori* infection; Immune analysis

Zhu ZH, Tang XD, Wang FY, Guo P. Immune factors affecting eradication of *Helicobacter pylori*: Implications

for immunotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2674-2678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2674>

摘要

探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)免疫根除因素与临床治疗意义。与单纯抑酸杀菌作阳性对照, 并搜集相关文献给予总结归纳。从免疫学角度出发, 分析根除*H. pylori*相关因素, 为未来口服*H. pylori*疫苗提出新的假设。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌感染; 免疫分析

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染产生的毒力因子和细胞黏附分子参与多种信号通路及免疫信号传导, 直接或间接引起免疫-炎症反应, 可导致胃炎及消化性溃疡病的发生, 目前, 有多种根除*H. pylori*的方法, 但由于*H. pylori*的耐药性的存在, 给治疗带来一定的阻力。免疫根治法是根据药物能直接的作用于*H. pylori*的致命靶位, 从而清除*H. pylori*而不会使病菌耐药性增加。免疫根治法处于不断发展的阶段, 本文重在探讨*H. pylori*免疫根除的新方法、新思路。

朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭朋. 幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2674-2678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2674>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染检出率逐年上升, 临床报道*H. pylori*相关疾病也从单一性到多元化转变。根除*H. pylori*已成为多数专家共识, 本文着重探讨*H. pylori*免疫根除因素与临床治疗意义, 为未来*H. pylori*疫苗根除提供新思路。

1 *H. pylori*相关免疫原性

*H. pylori*与乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒等嗜

■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院肿瘤生物诊疗中心

脏器性病毒, 皆因分布部位不同或形状、大小各异而命名。作为非自体抗原抗体复合物, 其免疫活性及其激发效应越来越引起人们的关注及研究。

1.1 *H. pylori*全细胞抗原 新近Raghavan等^[1]用甲醛灭活同种的和异种的*H. pylori*加上CT作为佐剂共同口服免疫被HpSSI株感染的C57BL/6小鼠, 得出具有治疗性免疫的结果。Losonsky等^[2]用失活*H. pylori*整个细胞疫苗和重组大肠杆菌热不稳定肠毒素[LT/(R192G)]口服免疫*H. pylori*血清阴性个体来研究B细胞特殊应答能否在胃黏膜*H. pylori*阴性对象中引出。看来*H. pylori*全菌抗原性研究价值不容忽视, 也为根除*H. pylori*研制疫苗奠定基础。

1.2 蛋白或酶亚型基因 从异物抗原特异靶位点出发, 有学者报告在胃窦上皮细胞内有一种糖脂受体可以与*H. pylori*结合。*H. pylori*可引起机体特异体液及细胞免疫, 机体产生的抗体识别*H. pylori*相关抗原, 其中包括尿素酶亚单位62 kDa和30 kDa, 56 kDa热休克蛋白和54 kDa鞭毛蛋白。分泌细胞毒素的菌株同时分泌128 kDa的蛋白质, 编码这种128 kDa蛋白质的基因被称为*cagA*, 此基因可能调控毒素表达^[3]。黏附素是*H. pylori*的重要毒力因素, 也是其定植于胃黏膜的物质基础^[4-7]。从黏附素出发寻找抗原, 从而在感染的初期就能通过阻断黏附防止感染而最终将*H. pylori*清除提供思路^[8]。de Jonge等^[9]学者通过豚鼠模型证实alpA、alpB缺陷对*H. pylori*的黏附定植十分不利。alpA的免疫原性在动物模型中已经有实验室证据。此外, 针对*H. pylori*脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)对胃黏膜致癌性改变的免疫原性因素亦不可忽视^[10]。需要指出的是, 有人发现*H. pylori*感染者存在抗胃上皮的抗体, 一些抗*H. pylori* LPS的特异性单抗与人Lewis血型抗原交叉反应。关于*H. pylori*基因组全部DNA测序工作, 为人们从分子生物学方面认识并防治*H. pylori*, 提供新的方向。

1.3 *H. pylori*免疫耐药 关于*H. pylori*耐药的临床观察报告较多, 兹不赘述, 但针对特异靶位点变异而致*H. pylori*耐药的相关机制分析甚少。故对*H. pylori*免疫耐药的相关解释尚存在假设阶段。

2 自身免疫系统组成

*H. pylori*感染往往激活自身免疫系统应答, 诱发炎症反应。胃黏膜缺乏淋巴组织, 也缺乏像M细胞那样能呈递抗原和微生物的专职细胞, 提示

胃黏膜系统有其诱发原始免疫的特异性。

2.1 胃上皮细胞递呈 正常情况下胃黏膜不表达MHC II类分子, 病理情形下胃上皮细胞可作为CD4⁺T细胞的抗原呈递细胞。胃黏膜上皮细胞间质中存在层粘蛋白、纤维连接蛋白、胶原纤维和硫酸乙酰肝素等, 均可与*H. pylori*发生非特异性结合, 从而促进*H. pylori*在胃黏膜的定植。胃上皮细胞表达*H. pylori*相关抗原抗体受体, 研究显示, 由于长期炎症刺激, 暴露的细胞外基质成分, 如层黏素、IV型胶原和玻璃体结合蛋白可与*H. pylori*相关受体结合, 黏附在胃黏膜上的*H. pylori*由于多种黏附因子的存在形成“骨架结构”。正由于此, 保证了*H. pylori*的长期定植。

2.2 Th细胞辅助免疫 在*H. pylori*感染过程中, 通过对实验性*H. pylori*感染的动物及*H. pylori*慢性感染的人体研究, 发现*H. pylori*引起以Th1为主的浸润反应。由此推之, Th细胞相关T细胞受体可与之组成免疫复合物。Th系受相关因子刺激, 分泌生长因子, 辅助细胞免疫。

2.3 细胞因子参与 有研究发现纯化的*H. pylori*尿素酶还可诱导胃上皮细胞及中性粒细胞表达分泌促炎细胞因子白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等, 但对IL-8的分泌无诱导作用。已证实*H. pylori*感染与胃黏膜的IL-1、IL-6、IL-8及TNF- α 升高相关, 这些细胞因子可引起中性粒细胞的聚集和激活, 中性粒细胞在上皮间迁移并释放介质, 引起炎症反应。Th1反应可刺激IL-2、干扰素- γ 和其他炎症性细胞因子产生, 促进巨噬细胞和多形核细胞激活, 最终导致组织损伤。

2.4 体液免疫 有研究显示, 嗜酸乳杆菌可在胃黏膜诱发体液免疫和细胞免疫应答, 产生分泌性抗体slgA, 黏膜免疫中所产生的slgA可有效阻止*H. pylori*黏附^[11-13]。由于嗜酸乳杆菌等疫苗不能有效诱发黏膜免疫, 不能产生大量特异的slgA, 而slgA能够抗病毒、中和毒素及其他生物活性抗原, 这种自身免疫抑制效应使得抗*H. pylori*治疗难度增加, 故*H. pylori*不能彻底被根除^[14]。

3 单纯抑酸杀菌疗法与联合*H. pylori*免疫疗法阳性对照观察

3.1 数据统计 施纯礼采取三联疗法根除*H. pylori*, 对其药物经济学分析显示, 因药物剂量不同, 造成短期内抗*H. pylori*效果 $P<0.05$, 长期应用, *H. pylori*耐药不可忽视^[15]。杨洋对*H. pylori*感染患者服用抗*H. pylori*免疫球蛋白进行临床观

■研发前沿

*H. pylori*根除治疗多从三联、四联、序贯等入手, 就*H. pylori*疫苗机制研究少, 文献报道也较少, 目前*H. pylori*根除治疗仅靠定性诊断并药物治疗, 本文通过分析*H. pylori*相关免疫机制与发病因素, 提供*H. pylori*免疫治疗思路。

■相关报道

陈洪等编译发现 *H. pylori* 黏膜免疫可以治疗并预防 *H. pylori*, 对以后免疫根除治疗 *H. pylori* 指导临床有一定意义。

察, 结果显示, 试验组明显优于中药组 ($P < 0.01$), 与三联对照组无明显差异 ($P > 0.05$)^[16]。有研究针对抗 *H. pylori* 菌的重组蛋白抗原进行统计, 在所有构建的尿素酶B (urease B, UreB)、空泡毒素 (vacuolating cytotoxin A, VacA)、细胞毒素相关蛋白 I、黏附素、中性粒细胞激活蛋白、鞭毛蛋白 (FlaA) 和 FlaB 进行对照分析, 结果表明, UreB 作为候选抗原较佳, *H. pylori* 抗体阳性率可达 100%^[17]。由此推之, 联合 *H. pylori* 免疫疗法是序贯疗法、单独三四联质子泵抑制剂疗法后创新疗法, 其有效性尚待临床验证。

3.2 免疫疗法 有实验将 *ureB* 与 *omp11* 2 个基因进行融合, 并插入原核表达载体 pMAL-c2X 中, 构建 UreB-Omp11 融合蛋白的表达系统 TB1 (pMAL-c2X-ureB-omp11) 并获得了融合蛋白的高效表达, 其抗原性及免疫活性得到了最大程度保留, 对传统的重组体的构建方法是一个创新^[18]。何计国引入化学芳香环以 O,O-二甲基硫代磷酸氯和 4-羟基苯甲酸甲酯为原料合成半抗原 *H. pylori*^[19]。相关 *H. pylori* 免疫疗法有多种尝试, 就预防疫苗和治疗性疫苗就在诱导黏膜免疫时间上有很大差异, 针对重组疫苗如减毒沙门菌携带 *H. pylori* 抗原, 难以表达多种抗原, 也与全菌体疫苗差距大。理想性疫苗运用微胶囊运送保护性 *H. pylori* 抗原混合物加上强有效的黏膜佐剂, 或代表 O 群流行株表面表达主要保护性抗原的灭活全菌体混合物, 这一设想还有待实践证明其可行性^[20]。

4 根除 *H. pylori* 的临床的作用与意义

众所周知, *H. pylori* 为胃炎、消化性溃疡病以及胃癌的重要致病因素, *H. pylori* 直接诱导以及间接引起的免疫-炎症反应均参与胃炎及消化性溃疡病的发生。鉴于 *H. pylori* 存在的普遍性及不同人群感染率的差异性, 由此推测, 对 *H. pylori* 的细胞免疫应答可能是其中一个重要的致病因素, 同时也可能促进该菌的慢性感染。 *H. pylori* 免疫原性是由于菌株致病源的持续存在。其致细胞毒性称为 *H. pylori* 毒力因子。空泡/细胞毒素 (及其细胞毒素相关蛋白 CagA 蛋白)、定居因子 (尿素酶、鞭毛、粘附素)、趋化因子、热休克蛋白、脂多糖及生物胺等皆是刺激机体发生免疫应答的联合潜在因素。其异物免疫原性是其长期定植的前提和关键。

临床研究已显示, 在 *H. pylori* (-) 群体中, 胃黏膜 Th1 应答加强, 提示感染清除, 因此, *H. pylori* 感染与 Th2 应答有关, 而非感染者则具有较

强的 Th1 反应。最近对淋巴细胞增生及细胞因子的研究表明, *H. pylori* (+) 患者其细胞免疫低下, 其 Th1 反应受到抑制。另外, 阳性患者 MHC II 类抗原 (人类白细胞抗原 HLA-DR) 在局部也相应的表达增加, 与之相反, 白细胞结合素或白细胞功能相关性抗原-1 调控性表达受抑制。因此, *H. pylori* 免疫应答效应是其不易彻底根除及易复发的重要因素。总之, 进一步深入了解局部抗原免疫应答机制有助于揭示胃、十二指肠疾病的致病机制, 探索 *H. pylori* 免疫防治新途径。

临床中, *H. pylori* 感染可致儿童特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) 的发病机制目前尚不清楚, 有报道称, *H. pylori* 与血小板的某些抗原性成分有交叉致机体产生血小板抗体, 或是诱导血小板某些表面抗原识别, 激活自身免疫技能。Russo 等^[21]报道在 24 例 ITP 中 8 例有 *H. pylori* 感染, 经抗 *H. pylori* 治疗后, 6 例血小板计数明显增加; 而无 *H. pylori* 感染者与 *H. pylori* 未清除者的血小板计数及血小板抗体均无改变, 说明 *H. pylori* 感染可能是 ITP 发病的直接因素。近年来的国内外研究表明 *H. pylori* 感染与特发性血小板减少性紫癜的发病存在一定的相关性^[22-25]。MN 是成人原发性肾病综合征的常见病理类型, 其发生发展被认为与慢性感染/肿瘤有关^[26-29]。能产生此种肾损害的肿瘤主要常见的是胃癌和肺癌。Wakashin 等^[30]对 3 例胃癌合并肾病综合征患者进行肾活检, 在肾小球皮下发现了 CEA 和抗 CEA 免疫复合物的沉积。魏氏发现合并症肺癌、卵巢癌等实体肿瘤 7 例, 与文献报道一致^[31-35]。另外, *H. pylori* 感染还可降低胃液中维生素 C 的浓度, 而维生素 C 的还原形式-抗坏血酸是促进高价铁吸收的强有力因子, 从而影响铁的吸收, 这也提示, *H. pylori* 感染可能是缺铁性贫血的一个致病因素^[36]。由此可知, *H. pylori* 根除存在其必要性。因此, 从免疫学角度出发, 深入研究根除 *H. pylori* 相关致命性靶位, 为研制黏膜免疫性疫苗及彻底根除 *H. pylori* 提供新思路。

有研究报道, *H. pylori* 介导炎症反应, 刺激免疫细胞引起黏膜一系列免疫炎症反应。IL-17 是一种新型促炎症细胞因子, IL-6 和转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 不仅参与炎症反应, 同时也是 Th17 细胞重要的分化调节因子^[37]。马健等^[38]研究发现 IL-17、IL-6、TGF- $\beta 1$ 表达于 CG 组织中的淋巴细胞膜和/或细胞浆中, 少量中性粒细胞也可见三者的表达。值得注意的是, *H. pylori* 的疫苗接种所引起的有效保护性免

疫反应与 *H. pylori* 感染所引起的自然免疫反应是不同的。 *H. pylori* 疫苗的保护性免疫除包括特异的抗体(IgG、IgA)反应外, 还存在非抗体依赖的细胞免疫等其他机制采用B细胞缺陷的 *LMT* 基因敲除小鼠进行实验, 发现无论是预防性或治疗性地用 *H. pylori* 抗原加LT佐剂免疫后都可获得抗螺杆菌的免疫保护效应^[39]。有资料显示, Cag致病岛(Cag-pathogenicity island, Cag-PAI)为 *H. pylori* 基因组中一段长约37-40 kb的核酸序列, 共编码27-31个蛋白^[40-43]。根据在cagA转运和IL-8诱导表达中的作用可将这些基因大致分为4类, 其中与cagA转运密切相关的包括cagT、cagY、cagV、cagM、cagL、cagX、cagH、cagC、cagV、cagδ、cagα、cagW、cagU、cagE、cagβ、cagZ以及cagl基因, 这些基因的缺失能够阻止cagA的转运^[44,45]。总之, cagE和cagβ具有良好的免疫反应性, 是潜在的药物靶点和诊断分析靶点^[46]。

值得指出的是, 近年来中医体质学说研究的发展为中医药开展 *H. pylori* 感染的防治提供了新思路。研究已表明, 气虚质、湿热质和阳虚质多见于 *H. pylori* 阳性患者; 平和质多见于 *H. pylori* 阴性患者。中医体质学认为体质的差异性在很大程度上决定着疾病的发生。正如张仲景提出的“四季脾旺不受邪”。既往研究认为 *H. pylori* 感染病机以正虚邪实, 虚实夹杂为主, 正虚是脾胃虚弱, 邪实为湿热蕴结。脾胃虚弱, 运化不利, 水湿内停, 酿成湿热。从上可以看出中医对 *H. pylori* 感染的认识与本研究结果是相符的。中医药防治 *H. pylori* 感染可以从中医体质学角度出发, 通过调理偏颇体质达到扶正祛邪的目的, 进一步发挥中医药的优^[47-52]。

5 参考文献

- 1 Raghavan S, Hjulström M, Holmgren J, Svennerholm AM. Protection against experimental Helicobacter pylori infection after immunization with inactivated H. pylori whole-cell vaccines. *Infect Immun* 2002; 70: 6383-6388 [PMID: 12379718 DOI: 10.1128/IAI.70.11.6383-6388.2002]
- 2 Losonsky GA, Kotloff KL, Walker RI. B cell responses in gastric antrum and duodenum following oral inactivated Helicobacter pylori whole cell (HWC) vaccine and LT(R192G) in H pylori seronegative individuals. *Vaccine* 2003; 21: 562-565 [PMID: 12531656 DOI: 10.1016/S0264-410X(02)00259-1]
- 3 范学工, 夏华向. 幽门螺杆菌感染—基础与临床. 湖南: 科学技术出版社, 1997: 1-11
- 4 吴利先, 杨致邦, 林姗姗, 刘淼. 幽门螺杆菌临床株粘附素HpaA基因的克隆表达及在诊断中的价值. 中国人兽共患病杂志 2004; 20: 275-278
- 5 Odenbreit S, Faller G, Haas R. Role of the alpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of Helicobacter pylori to human gastric tissue. *Int J Med Microbiol* 2002; 292: 247-256 [PMID: 12398215 DOI: 10.1078/1438-4221-00204]
- 6 Azevedo M, Eriksson S, Mendes N, Serpa J, Figueiredo C, Resende LP, Ruvoën-Clouet N, Haas R, Borén T, Le Pendu J, David L. Infection by Helicobacter pylori expressing the BabA adhesin is influenced by the secretor phenotype. *J Pathol* 2008; 215: 308-316 [PMID: 18498114 DOI: 10.1002/path.2363]
- 7 Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Imamura S, Ohno T, Sawai N, Ishimaru A, Imanishi J, Graham DY. Helicobacter pylori infection in mice: Role of outer membrane proteins in colonization and inflammation. *Gastroenterology* 2002; 123: 1992-2004 [PMID: 12454856 DOI: 10.1053/gast.2002.37074]
- 8 韩飞, 杨致邦. 幽门螺杆菌hp1188基因的原核表达. 重庆医科大学学报 2010; 35: 822-825
- 9 de Jonge R, Durrani Z, Rijpkema SG, Kuipers EJ, van Vliet AH, Kusters JG. Role of the Helicobacter pylori outer-membrane proteins AlpA and AlpB in colonization of the guinea pig stomach. *J Med Microbiol* 2004; 53: 375-379 [PMID: 15096545 DOI: 10.1099/jmm.0.45551-0]
- 10 Lembo A, Caradonna L, Magrone T, Mastronardi ML, Caccavo D, Jirillo E, Amati L. Helicobacter pylori infection, immune response and vaccination. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2001; 1: 199-208 [PMID: 12477286 DOI: 10.2174/1568008013341190]
- 11 Gu Q, Song D, Zhu M. Oral vaccination of mice against Helicobacter pylori with recombinant Lactococcus lactis expressing urease subunit B. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 56: 197-203 [PMID: 19453750 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2009.00566.x]
- 12 Scheppler L, Vogel M, Zuercher AW, Zuercher M, Germond JE, Miescher SM, Stadler BM. Recombinant Lactobacillus johnsonii as a mucosal vaccine delivery vehicle. *Vaccine* 2002; 20: 2913-2920 [PMID: 12126902 DOI: 10.1016/S0264-410X(02)00229-3]
- 13 Grangette C, Müller-Alouf H, Goudercourt D, Geoffroy MC, Turneer M, Mercenier A. Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant Lactobacillus plantarum. *Infect Immun* 2001; 69: 1547-1553 [PMID: 11179325 DOI: 10.1128/IAI.69.3.1547-1553.2001]
- 14 朱丽芳, 龙北国, 罗军, 姜容, 范宏英. 高效表达幽门螺杆菌黏附素Hp0410的嗜酸乳杆菌重组菌株的构建. 南方医科大学学报 2010; 30: 334-337
- 15 施纯礼. 3种方案根除幽门螺杆菌的药物经济学分析. 临床合理用药 2010; 3: 21-22
- 16 杨洋. 抗Hp免疫球蛋白治疗Hp感染患者临床观察. 白求恩医学院学报 2004; 2: 153-154
- 17 邵浙新, 严杰. 临床菌株中幽门螺杆菌主要蛋白抗原的表达及感染者血清抗体水平的调查. 中华流行病学杂志 2004; 25: 820
- 18 赵玉霞, 杨国俊, 章涵, 段广才, 郝园林. 幽门螺杆菌UreB-Omp11融合蛋白的表达、纯化与免疫学活性检测. 郑州大学学报 2009; 44: 125-129
- 19 姜盼盼, 陈晨, 李招慧, 何计国. 有机磷农药共性结构人工抗原的合成与鉴定. 卫生研究 2009; 38: 649-652
- 20 陈洪, 刘晶星. 抗幽门螺杆菌黏膜疫苗的前景 2004; 27: 14-17
- 21 Russo G, Miraglia V, Branciforte F, Matarese SM, Zecca M, Bisogno G, Parodi E, Amendola G, Giordano P, Jankovic M, Corti A, Nardi M, Farruggia P, Battisti L, Baronci C, Palazzi G, Tucci F, Ceppi S, Nobili B, Ramenghi U, De Mattia D, Notarangelo

■应用要点

鉴于 *H. pylori* 免疫根除治疗与药物治疗对照相关性, 临床上可以考虑联合 *H. pylori* 免疫疗法, 减少大量长时间应用抗生素引起的耐药, 提高患者的生活质量。同时, 也为未来临床提供新思路。

■同行评价

本文立意新颖,关于H. pylori免疫根除疗法,有一定临床指导意义。

- 22 Stasi R, Provan D. Helicobacter pylori and Chronic ITP. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 206-211 [PMID: 19074084 DOI: 10.1182/asheducation-2008.1.26]
- 23 Veneri D, Franchini M, Gottardi M, D'Adda M, Ambrosetti A, Krampera M, Zanetti F, Pizzolo G. Efficacy of Helicobacter pylori eradication in raising platelet count in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2002; 87: 1177-1179 [PMID: 12414347]
- 24 Asaumi N, Masuda K, Yoshida C, Kiguchi T, Niiya M, Niiya K, Tanimoto M. [Helicobacter pylori eradication based upon a drug sensitivity test effectively increased platelet count in a patient with refractory idiopathic thrombocytopenic purpura]. *Rinsho Ketsueki* 2003; 44: 480-482 [PMID: 12931570]
- 25 刘蕾, 王凌云, 胡晓彦. 抗幽门螺杆菌结合经典疗法治疗ITP血小板计数变化观察. *内蒙古中医药* 2013; 7: 69-70
- 26 Numata A, Akimoto T, Toshima M, Iwazu Y, Otani N, Miki T, Sugase T, Saito O, Hamano Y, Takemoto F, Ueda Y, Muto S, Kusano E. Membranous nephropathy in an HIV-positive patient complicated with hepatitis B virus infection. *Clin Exp Nephrol* 2011; 15: 769-773 [PMID: 21713374 DOI: 10.1007/s10157-011-0477-2]
- 27 Sugimoto T, Furukawa T, Maeda T, Somura M, Uzu T, Kashiwagi A. Marked reduction of proteinuria after eradication of gastric Helicobacter pylori infection in a patient with membranous nephropathy: coincidental or associated? *Intern Med* 2007; 46: 1483-1484 [PMID: 17827856 DOI: 10.2169/internalmedicine.46.0200]
- 28 王瑞石, 刘志红, 陈燕. 肾小球膜性病变的病因分析及流行病学特点. *肾脏病与透析肾移植杂志* 2006; 15: 416-421
- 29 邵枫, 魏日胞, 白雪源, 王远大, 陈香美. 幽门螺杆菌感染与膜性肾病的相关性研究. *中国中西医结合肾病杂志* 2013; 14: 413-415
- 30 Wakashin M, Wakashin Y, Iesato K, Ueda S, Mori Y, Tsuchida H, Shigematsu H, Okuda K. Association of gastric cancer and nephrotic syndrome. An immunologic study in three patients. *Gastroenterology* 1980; 78: 749-756 [PMID: 6986318]
- 31 Nunez S, Konstantinov KN, Servilla KS, Hartshorne MF, Williams WL, Gibel LJ, Tzamaloukas AH. Association between scleroderma, renal cell carcinoma and membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 2009; 71: 63-68 [PMID: 19203552]
- 32 Uramatsu T, Furusu A, Nishino T, Obata Y, Kanamoto Y, Komuro S, Ito M, Taguchi T, Kohno S. Membranous nephropathy complicating nasopharyngeal carcinoma. *Intern Med* 2010; 49: 585-588 [PMID: 20228596 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.2762]
- 33 Ito C, Akimoto T, Nakazawa E, Komori S, Sugase T, Chinda J, Takahashi H, Ioka T, Muto S, Kusano E. A case of cervical cancer-related membranous nephropathy treated with radiation therapy. *Intern Med* 2011; 50: 47-51 [PMID: 21212573 DOI: 10.2169/internalmedicine.50.4341]
- 34 Bacchetta J, Juillard L, Cochat P, Droz JP. Paraneoplastic glomerular diseases and malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 70: 39-58 [PMID: 18790651 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2008.08.003]
- 35 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3327-3331
- 36 Koike T, Ohara S, Sekine H, Iijima K, Abe Y, Kato K, Toyota T, Shimosegawa T. Helicobacter pylori infection prevents erosive reflux oesophagitis by decreasing gastric acid secretion. *Gut* 2001; 49: 330-334 [PMID: 11511552 DOI: 10.1136/gut.49.3.330]
- 37 Morishima N, Mizoguchi II, Hermann B, Thomas B. Two dimensional speckle traples. *Heart* 2011; 96: 716-722
- 38 马健, 王涛, 马春红, 孟饮颖, 周长宏. 慢性胃炎病人IL-17、IL-6和TGF-β1的表达及意义. *齐鲁医学杂志* 2013; 28: 139-144
- 39 Blanchard TG, Czinn SJ, Redline RW, Sigmund N, Harriman G, Nedrud JG. Antibody-independent protective mucosal immunity to gastric helicobacter infection in mice. *Cell Immunol* 1999; 191: 74-80 [PMID: 9918689 DOI: 10.1006/cimm.1998.1421]
- 40 Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186 [PMID: 12374879 DOI: 10.1056/NEJMra020542]
- 41 Blaser MJ, Berg DE. Helicobacter pylori genetic diversity and risk of human disease. *J Clin Invest* 2001; 107: 767-773 [PMID: 11285290 DOI: 10.1172/JCI12672]
- 42 Fischer W. Assembly and molecular mode of action of the Helicobacter pylori Cag type IV secretion apparatus. *FEBS J* 2011; 278: 1203-1212 [PMID: 21352490 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08036.x]
- 43 Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. Helicobacter pylori virulence and genetic geography. *Science* 1999; 284: 1328-1333 [PMID: 10334982 DOI: 10.1126/science.284.5418.1328]
- 44 Fischer W, Püls J, Buhrdorf R, Gebert B, Odenbreit S, Haas R. Systematic mutagenesis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. *Mol Microbiol* 2001; 42: 1337-1348 [PMID: 11886563 DOI: 10.1046/j.1365-2958.2001.02714.x]
- 45 Selbach M, Moese S, Meyer TF, Backert S. Functional analysis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island reveals both VirD4-CagA-dependent and VirD4-CagA-independent mechanisms. *Infect Immun* 2002; 70: 665-671 [PMID: 11796597 DOI: 10.1128/IAI.70.2.665-671.2002]
- 46 官雅楠, 肖迪, 张建中. 幽门螺杆菌CagA转运相关蛋白CagE、Cagδ及Cagβ的克隆表达及免疫反应性分析. *中国病原生物学杂志* 2013; 8: 393-396
- 47 高文, 胡伏莲. 幽门螺旋杆菌感染与胃肠道外疾病. *中国医刊* 2007; 42: 22-27
- 48 王琦. 论中医体质研究的3个关键问题(下). *中医杂志* 2006; 47: 329
- 49 中华中医药学会. ZYYXH/T157-2009中医体质分类与判断. 北京: 中国中医药出版社, 2009
- 50 徐军平, 李维旭, 傅纓, 资晓飞. 幽门螺杆菌感染与中医体质的相关性研究. *内蒙古中医药* 2013; 5: 130-131
- 51 王琦. 中医体质学. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 36-41
- 52 陆为民, 潘琳, 吴静. 体质学说对中医药治疗幽门螺旋杆菌感染的启示. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3432-3435

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗

李 军, 殷正丰

李军, 殷正丰, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科
医院分子肿瘤研究室 上海市 200438

李军, 主要从事循环肿瘤细胞的基础和应用研究.

国家传染病重大专项基金资助项目, No. 2012ZX10002012-010

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81172207, 81272669

作者贡献分布: 本文写作由李军完成; 殷正丰负责选题、修改及定稿.

通讯作者: 殷正丰, 教授, 200438, 上海市长海路225号, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤研究室.
yinzfk@aliyun.com

电话: 021-81875354

收稿日期: 2013-04-27 修回日期: 2013-07-15

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-18

Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy

Jun Li, Zheng-Feng Yin

Jun Li, Zheng-Feng Yin, Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

Supported by: the China's National Key Projects for Infectious Disease, No. 2012ZX10002012-010; and the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81172207 and 81272669

Correspondence to: Zheng-Feng Yin, Professor, Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, 225 Changhai Road, Shanghai 200438, China. yinzfk@aliyun.com

Received: 2013-04-27 Revised: 2013-07-15

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-18

Abstract

The heterogeneity of cancer cells involved in oncogenesis and metastasis has always been the key factor that impedes tumor diagnosis and treatment (especially traditional chemotherapies). In recent years, molecular characterization of tumors and accordingly implementation of individualized treatment targeting specific molecular markers have become a hotspot for cancer research. As a link between the primary tumor and metastases, circulating tumor cells (CTCs) provide a window into tumor biology and the metastatic cascade. With their real-time, non-invasive and repeatable access, CTCs are excellent resources of tumor

specimens. Molecular characterization of CTCs is of great significance for tumor molecular analysis and individualized treatment. Here we review the recent progress in molecular characterization of CTCs and individualized cancer diagnosis and therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Tumors; Circulating tumor cells; Molecular characterization; Individualized therapy

Li J, Yin ZF. Molecular characterization of circulating tumor cells and individualized cancer diagnosis and therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2679-2684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2679>

摘要

肿瘤细胞表现的高度异质性严重困扰着肿瘤临床诊断和治疗. 因此, 肿瘤分子分型及其指导个体化治疗一直是肿瘤研究领域的热点. 循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)作为具有肿瘤代表性的“液体活检”样本, 允许多次、实时、非侵入性获取, 是指导个体化肿瘤诊疗的绝佳标本. 目前认为, 基于分子鉴定检测少数更具存活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数更有价值. 而在肿瘤转移过程中CTCs表现的多种生物学特性及其分子机制都可被用于分型, 并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点. 本文综述近年来关于CTCs分子鉴定的研究进展, 以及CTCs分子分型指导个体化诊疗的研究现状, 提出相关领域今后的研究方向.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肿瘤; 循环肿瘤细胞; 分子鉴定; 个体化治疗

核心提示: 尽管关于循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)的研究报道越来越多, 但目前更多的是注重于CTCs富集、分离方法学的改进或升级以及CTCs计数临床意义的评价, 至于CTCs分子表型鉴定及其临床意义的研究尚处于起步阶段. CTCs具有特有的生物学特性和行为,

■背景资料

肿瘤异质性是困扰肿瘤临床诊断和治疗的一大问题, 分子分型是个体化治疗的基础. 脱离原发灶或转移灶进入血液的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是具有肿瘤代表性的绝佳标本, 以其代替肿瘤组织进行分子表型分析, 在临床上指导个体化诊疗已成为肿瘤学领域的一个研究热点.

■同行评议者

倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科; 李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

■ 研发前沿

随着生物技术的不断发展和进步, CTCs研究正在从单纯的分离计数逐渐发展为在分离计数基础上进一步进行分子鉴定, 尤其是单细胞测序技术的发展, 允许对单个CTCs进行分子鉴定和比较分析, 是未来的一个研究趋势。

有关分析对于进一步了解肿瘤异质性, 选择个体化治疗方案, 并在治疗过程中实时监测疗效具有广泛的应用前景。

李军, 殷正丰. 循环肿瘤细胞分子鉴定与个体化肿瘤诊疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2679-2684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2679>

0 引言

恶性肿瘤通常经历一个由原发灶形成, 肿瘤细胞不断侵袭、迁移, 最终形成转移灶的过程. 在此过程中肿瘤细胞表现的高度异质性为临床诊断和治疗带来很大困扰, 严重挑战传统的诊疗方法^[1]. 因此, 对肿瘤进行分子分型并指导个体化治疗一直是肿瘤研究领域的热点, 也是未来的发展方向^[2]. 然而, 真正实现肿瘤分子分型并非易事, 一个最大局限是对肿瘤组织的获取, 对术后难以找到可测量病灶的肿瘤更是如此. 而且在漫长发展过程中肿瘤细胞不断发生基因型变化, 需要多次获取样本对肿瘤细胞表型进行实时监测^[3,4]. 值得庆幸的是, 近来的研究表明, 脱离原发灶或转移灶后进入血液的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)作为原发灶和转移灶之间的链接, 以及肿瘤生物学和转移的窗口, 不仅是研究肿瘤转移复发过程和机制的一个重要切入点, 而且可作为具有肿瘤(包括转移灶)代表性的“液体活检”(liquid biopsy)样本, 允许多次、实时、非侵入性获取, 是指导个体化肿瘤诊疗的绝佳标本^[5]. 然而, 现有的研究表明, 固然CTCs检测具有评估疾病进程和预测肿瘤转移复发、生存预后的潜能, 但是CTCs也是具有高度异质性的细胞群体, 基于分子鉴定检测少数更具活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数可能更有价值^[6]. 已知CTCs在历经侵袭、转移各个阶段的过程中, 需要获得上皮间质转化、干细胞特性、逃逸免疫监视、抵抗失巢凋亡、耐受治疗等生物学特性, 才能闯过层层难关生存下来并增殖, 最终形成远处转移灶^[7]. 而上述每个生物学特性的分子机制都可被用来进行肿瘤分子分型, 并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点. 本文综述近年来关于CTCs分子鉴定的研究进展以及CTCs分子分型促进个体化诊疗转化研究的现状, 提出相关领域今后的研究方向.

1 CTCs全基因表达谱检测

肿瘤全基因表达谱检测早已得到较多应用, 近

来有人尝试检测CTCs全基因表达谱. Smirnov等^[8]从3例转移性肿瘤患者外周血中富集CTCs, 比较富集前、后血样中基因表达谱变化, 筛选出35个差异表达基因, 然后在30例转移性结直肠癌患者CTCs中进行验证, 发现其中*KRT19*、*KRT20*、*AGR2(hAG-2)*、*CEACAM5*、*SI00A14*、*SI00A16*和*FABP1*等基因高表达. 如果以*AGR2*、*KRT19*、*SI00A13*、*ASGR2*和*TST*联合表达区分转移病例和对照病例, 其准确率超过80%. Strati等^[9]应用qRT-PCR检测66例早期乳腺癌患者CTCs基因表达谱, 发现*CK19*、*MAGE-A3*、*HER-2*、*TWIST1*、*hTERT*和乳腺珠蛋白转录本尽管表达率不同, 但均高于26例转移性乳腺癌, 提示这些基因与乳腺癌侵袭转移密切相关. Magbanua等^[10]检测9例转移性去势抵抗性前列腺癌(castration resistant prostate cancer, CRPC)患者CTCs基因表达谱, 发现存在广泛的基因拷贝数异常(>50%). 值得注意的是, 其中7例(78%)X染色体上雄激素受体所在基因座拷贝数高水平扩增, 不仅提示这与CRPC疾病进展高度相关, 而且证明CTCs可用来检测CRPC患者雄激素受体扩增情况.

近年来的一个重要进展是单细胞基因测序技术和单细胞全基因表达谱检测在CTCs方面的应用^[11,12]. Stoecklein等^[13]应用比较基因组杂交技术对食管癌患者骨髓中获取的单个播散肿瘤细胞进行全基因组测序, 发现不同细胞之间的基因畸变存在偏差, 但在17q12-21染色体却均存在*HER-2*基因的获得, 并与生存预后相关. Powell等^[14]应用qRT-PCR技术分析乳腺癌患者单个CTCs基因转录谱, 发现受检的87个肿瘤相关基因在不同CTCs中表达并不相同, 以其中31个基因高表达为标准, 可将所有CTCs分为两个亚群. 有趣的是, 培养的乳腺癌细胞系基因表达差异则与CTCs不一致. 因此认为, 以往通常利用肿瘤细胞系进行新药筛选及药敏研究的策略具有很大的局限性. 毫无疑问, CTCs单细胞基因测序将描绘更为完整的肿瘤全基因表达谱和差异表达谱, 更好地反映肿瘤细胞异质性, 为肿瘤分子分型及相应的个体化治疗提供更准确的依据.

2 CTCs转移潜能标志物检测

目前认为, 肿瘤转移效率非常低, 只有一小部分具有高转移潜能的CTCs可能存活下来并最终形成转移灶. 而反映肿瘤细胞转移潜能的分子标志物包括一系列癌基因、抑癌基因、肿瘤生存

基因以及microRNA^[15]. Shen等^[16]应用qRT-PCR检测结直肠癌患者CTCs中生存素mRNA表达,发现阳性率(57.7%)显著高于良性疾病和健康对照组,而且生存素阳性与Dukes分期和淋巴转移状态明显相关. Yie等^[17]应用RT-PCR ELISA检测143例NSCLC患者CTCs生存素mRNA,发现其表达与肿瘤侵犯程度、淋巴结转转移状态以及疾病分期高度相关,阳性患者转移和复发概率更高.在乳腺癌、胃癌、结直肠癌中也有类似的发现,且与血浆CEA相比,生存素mRNA阳性CTCs能更准确地预测复发. Yoon等^[18]应用巢式qRT-PCR检测79例NSCLC患者CTCs甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor 1, TTF-1)mRNA表达,发现术后阳性患者的无进展生存时间(progression-free survival, PFS)较短,提示CTCs表达TTF-1 mRNA与肿瘤转移潜能相关,可以用于预测病情进展.此外,用于检测CTCs转移潜能的标志物还有AGR2(anterior gradient 2)^[19]、M30(凋亡相关KRT18片段)^[20]、端粒酶^[21]等.

3 CTCs 上皮-间质转化标志物检测

已知发生上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的肿瘤细胞迁移和侵袭能力增强^[22]. Lecharpentier等^[23]应用免疫荧光染色检测6例转移性NSCLC患者CTCs间质标志物vimentin及上皮标志物Keratin表达情况,结果在来自于6例的几乎所有CTCs中都可以观察到共同强表达这2个指标,没有发现只表达keratin的CTCs,但在3例患者中检测到很少几个只表达vimentin的CTCs.此研究首次证实了具有上皮/间质混合性表型CTCs的存在.而NSCLC原发性肿瘤的表型则是keratin阳性、vimentin阴性. Kasimir-Bauer等^[24]应用AdnaTest方法检测乳腺癌患者CTCs中3种EMT标志物(TWIST1、Akt2、PI3K α),结果29%患者至少一种阳性. Powell等^[14]分析乳腺癌患者CTCs单细胞转录谱后发现,尽管CTCs之间存在基因表达差异,但是普遍高表达EMT相关分子TGF- β 1、vimentin和CXCR4.最近的研究将CTCs的EMT表型与干细胞特性联系起来,认为EMT可以赋予CTCs干细胞特性^[25,26]. Armstrong等^[27]证实肿瘤患者CTCs高频出现共表达上皮标志物(EpCAM、cytokeratins、E-cadherin)、间质标志物(vimentin、N-cadherin、O-cadherin)和干细胞标志物(CD133)的现象.在另一项研究中,研究者检测了乳腺癌CTCs中EMT相关转录因子(TWIST1、SNAIL1、SLUG、ZEB1、FOXC2)的表达情况,

并分析了接受或未接受新辅助化疗对CTCs表达这些转录因子的可能影响,发现新辅助化疗并不能清除这些发生了EMT的CTCs^[28].推测EMT很可能通过赋予CTCs干细胞特性使CTCs耐受化疗.因此,检测CTCs亚型对于指导分子靶向药物的研发及临床个体化治疗具有重要意义.

然而,目前对于检测CTCs中EMT分子标志物存在一些争议.一方面,迄今对EMT现象仍缺乏共识,尚没有被一致认可的EMT分子标志物,以致于不同研究组选择的EMT标志物各不相同;另一方面,目前CTCs分离、检测大多基于上皮特异性分子(如EpCAM、CK等),由于CTCs可能因EMT丢失或低表达这些分子,导致具有EMT表型的CTCs无法被富集或漏检^[29].因此,CTCs EMT分子表型检测的临床可行性依赖于更高敏感度和更高特异性的CTCs的富集方法.

4 CTCs 干细胞标志物检测

有学者认为,CTCs就是来源于肿瘤干细胞的细胞亚群^[30].比如有研究显示,乳腺癌CTCs大多Ki67阴性(不增殖),支持干细胞的“休眠”学说^[31]. Balic等^[32]最先研究了CTCs干细胞亚型,发现转移性乳腺癌患者CTCs中72%具有CD44⁺/CD24^{-low}干细胞样表型,而原发肿瘤灶中低于10%.随后有多篇文献报道了类似的研究结果^[33-35].乙醛脱氢酶1(acetaldehyde dehydrogenase 1, ALDH1)被认为是一个新的乳腺癌干细胞样标志物^[36]. Aktas等^[37]发现,在转移性乳腺癌患者CTCs中ALDH1呈高表达,且治疗无效组的表达阳性率(44%)显著高于治疗有效组(5%). Raimondi等^[38]报道,乳腺癌CTCs中ALDH1表达与间质指标vimentin和纤维连接蛋白表达相关,并与肿瘤分期相关.而Theodoropoulos等^[33]则认为,与只是ALDH1高表达的CTCs相比,ALDH1高表达且具有CD44⁺/CD24^{-low}表型的CTCs恶性程度更高.然而,目前有关CTCs干细胞标志物鉴定的研究报道较少,一个主要的限速瓶颈可能是肿瘤干细胞标志物尚没有得到统一认定^[39].因此,肿瘤干细胞研究的进步将会推动CTCs干细胞标志物鉴定及其临床意义的研究.

5 CTCs 分子靶向药物靶点检测

近来,CTCs中药物靶点鉴定替代原发组织标本指导靶向药物治疗和监测疗效、耐药的潜能受到重视.已有多篇文献报道大部分乳腺癌患者(89%)CTCs表达HER-2与原发肿瘤组织一

■ 相关报道

目前国内外关于CTCs分离检测技术方法及其临床应用的综述较为多见.国外关于CTCs分子鉴定及其临床意义的研究报道也越来越多.

■创新盘点

目前国内外鲜见关于CTCs分子鉴定及其临床意义的综述。本文较为全面地介绍了CTCs分子分型指导肿瘤个体化诊疗的研究现状,并展望了本领域今后的研究方向。

致^[40-43],这意味着依靠CTCs指导乳腺癌靶向药物Herceptin治疗成为可能,从而可以摆脱目前单纯依靠肿瘤组织诊断的窘境。有趣的是,小部分患者(11%)原发肿瘤组织HER-2阴性,却可以从相同患者CTCs中检测到HER-2阳性,而在使用Herceptin治疗后,其中部分患者有效。说明检测CTCs表达HER-2甚至优于检测原发肿瘤组织。另有报道,检测CTCs表达雌激素受体和孕激素受体可以指导乳腺癌内分泌治疗^[43-45]。鉴于目前国际上对乳腺癌分子分型已形成共识^[46],可以预期,CTCs相关分子标志物检测在乳腺癌分子分型及个体化治疗方案制定方面将会大显身手。

其他类型肿瘤也有检测CTCs药物靶点的类似研究。Maheswaran等^[47]应用CTC-chip检测接受吉非替尼治疗的NSCLC患者CTCs,发现吉非替尼靶点EGFR突变与肿瘤组织具有高度一致性。Miyamoto等^[48]检测前列腺癌患者CTCs中雄激素受体及其下游信号通路相关分子的表达情况,可以指导前列腺癌内分泌治疗,并通过治疗过程中雄激素受体变化情况评估疗效。鉴于CRPC可以选择抗IGFR1治疗,有报道应用CTCs检测IGFR1表达情况指导制定抗IGFR1治疗方案^[49]。

6 结论

尽管关于CTCs的研究报道越来越多,但目前更多的是注重于CTCs富集、分离方法学的改进或升级,以及CTCs计数临床意义的评价,至于CTCs分子表型鉴定及其临床意义的研究尚处于起步阶段。CTCs具有特有的生物学特性和行为,有关分析对于进一步了解肿瘤异质性,选择个体化治疗方案,并在治疗过程中实时监测疗效具有广泛的应用前景^[50]。然而,CTCs分子鉴定需要高敏感和高特异的CTCs分离方法以及针对单细胞或稀少细胞的分子分析技术。现行的分离方法各有利弊,尤其是分离发生EMT或干细胞样CTCs受到质疑和挑战^[29]。而现有的常用CTCs分子鉴定方法也存在一定的局限,比如,针对蛋白标志物的免疫学检测方法敏感性或特异性不够;针对核酸标志物的PCR等检测技术需要破坏CTCs结构,无法观察细胞形态学以及计数靶细胞,更不能对靶细胞进行后续的细胞培养与药敏实验等。另一个棘手的问题是CTCs具有高度异质性。解决的策略是对单个CTCs进行分子鉴定和比较分析。目前已有一些这样的尝试^[51,52]。相信这会成为未来的一个研究趋势。

总之,实现CTCs分子鉴定在肿瘤个体化诊疗方面的临床转化在很大程度上取决于CTCs分离和鉴定技术的完善和发展。尽管尚有很长的路要走,相信通过全世界的共同努力,在不久的将来CTCs分型检测作为一项新的实验技术一定会得到广泛的临床应用,为临床医师提供有用信息,指导正确诊疗方案的制订,使广大肿瘤患者受益。

7 参考文献

- Saunders NA, Simpson F, Thompson EW, Hill MM, Endo-Munoz L, Leggatt G, Minchin RF, Guminski A. Role of intratumoural heterogeneity in cancer drug resistance: molecular and clinical perspectives. *EMBO Mol Med* 2012; 4: 675-684 [PMID: 22733553 DOI: 10.1002/emmm.201101131]
- Almendo V, Marusyk A, Polyak K. Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer. *Annu Rev Pathol* 2013; 8: 277-302 [PMID: 23092187 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-163923]
- Kwak EL, Sordella R, Bell DW, Godin-Heymann N, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Driscoll DR, Fidias P, Lynch TJ, Rabindran SK, McGinnis JP, Wissner A, Sharma SV, Isselbacher KJ, Settleman J, Haber DA. Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 7665-7670 [PMID: 15897464 DOI: 10.1073/pnas.0502860102]
- Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, Kris MG, Varmus H. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med* 2005; 2: e73 [PMID: 15737014 DOI: 10.1371/journal.pmed.0020073]
- Lin H, Balic M, Zheng S, Datar R, Cote RJ. Disseminated and circulating tumor cells: Role in effective cancer management. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 77: 1-11 [PMID: 20570170 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.04.008]
- Nadal R, Lorente JA, Rosell R, Serrano MJ. Relevance of molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer in the era of targeted therapies. *Expert Rev Mol Diagn* 2013; 13: 295-307 [PMID: 23570407 DOI: 10.1586/erm.13.7]
- Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007; 253: 180-204 [PMID: 17314005 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.014]
- Smirnov DA, Zweitzig DR, Foulk BW, Miller MC, Doyle GV, Pienta KJ, Meropol NJ, Weiner LM, Cohen SJ, Moreno JG, Connolly MC, Terstappen LW, O'Hara SM. Global gene expression profiling of circulating tumor cells. *Cancer Res* 2005; 65: 4993-4997 [PMID: 15958538 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4330]
- Strati A, Markou A, Parisi C, Politaki E, Mavroudis D, Georgoulas V, Lianidou E. Gene expression profile of circulating tumor cells in breast cancer by RT-qPCR. *BMC Cancer* 2011; 11: 422 [PMID: 21967632 DOI: 10.1186/1471-2407-11-422]
- Magbanua MJ, Sosa EV, Scott JH, Simko J, Collins C, Pinkel D, Ryan CJ, Park JW. Isolation and genomic analysis of circulating tumor cells from castration resistant metastatic prostate cancer.

- BMC Cancer* 2012; 12: 78 [PMID: 22373240 DOI: 10.1186/1471-2407-12-78]
- 11 Bendall SC, Nolan GP. From single cells to deep phenotypes in cancer. *Nat Biotechnol* 2012; 30: 639-647 [PMID: 22781693 DOI: 10.1038/nbt.2283]
 - 12 Heitzer E, Auer M, Gasch C, Pichler M, Ulz P, Hoffmann EM, Lax S, Waldspuehl-Geigl J, Mauermann O, Lackner C, Höfler G, Eisner F, Sill H, Samonigg H, Pantel K, Riethdorf S, Bauernhofer T, Geigl JB, Speicher MR. Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res* 2013; 73: 2965-2975 [PMID: 23471846 DOI: 10.1158/0008-5472]
 - 13 Stoecklein NH, Hosch SB, Bezler M, Stern F, Hartmann CH, Vay C, Siegmund A, Scheunemann P, Schurr P, Knoefel WT, Verde PE, Reichelt U, Erbersdobler A, Grau R, Ullrich A, Izbicki JR, Klein CA. Direct genetic analysis of single disseminated cancer cells for prediction of outcome and therapy selection in esophageal cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 441-453 [PMID: 18455127 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.04.005]
 - 14 Powell AA, Talasaz AH, Zhang H, Coram MA, Reddy A, Deng G, Tell ML, Advani RH, Carlson RW, Mollick JA, Sheth S, Kurian AW, Ford JM, Stockdale FE, Quake SR, Pease RF, Mindrinos MN, Bhanot G, Dairkee SH, Davis RW, Jeffrey SS. Single cell profiling of circulating tumor cells: transcriptional heterogeneity and diversity from breast cancer cell lines. *PLoS One* 2012; 7: e33788 [PMID: 22586443 DOI: 10.1371/journal.pone.0033788]
 - 15 Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 274-284 [PMID: 19308067 DOI: 10.1038/nrc2622]
 - 16 Shen C, Hu L, Xia L, Li Y. Quantitative real-time RT-PCR detection for survivin, CK20 and CEA in peripheral blood of colorectal cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2008; 38: 770-776 [PMID: 18845519 DOI: 10.1093/jco/hyn105]
 - 17 Yie SM, Lou B, Ye SR, He X, Cao M, Xie K, Ye NY, Lin R, Wu SM, Xiao HB, Gao E. Clinical significance of detecting survivin-expressing circulating cancer cells in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63: 284-290 [PMID: 18606477 DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.05.024]
 - 18 Yoon SO, Kim YT, Jung KC, Jeon YK, Kim BH, Kim CW. TTF-1 mRNA-positive circulating tumor cells in the peripheral blood predict poor prognosis in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 2011; 71: 209-216 [PMID: 20471712 DOI: 10.1016/j.lungcan.2010.04.017]
 - 19 Kani K, Malihi PD, Jiang Y, Wang H, Wang Y, Ruderman DL, Agus DB, Mallick P, Gross ME. Anterior gradient 2 (AGR2): blood-based biomarker elevated in metastatic prostate cancer associated with the neuroendocrine phenotype. *Prostate* 2013; 73: 306-315 [PMID: 22911164 DOI: 10.1002/pros.22569]
 - 20 Rossi E, Basso U, Celadin R, Zilio F, Pucciarelli S, Aieta M, Barile C, Sava T, Bonciarelli G, Tumolo S, Ghiotto C, Magro C, Jirillo A, Indraco S, Amadori A, Zamarchi R. M30 neoepitope expression in epithelial cancer: quantification of apoptosis in circulating tumor cells by CellSearch analysis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5233-5243 [PMID: 20978147 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1449]
 - 21 Fizazi K, Morat L, Chauveinc L, Prapotnich D, De Crevoisier R, Escudier B, Cathelineau X, Rozet F, Vallancien G, Sabatier L, Soria JC. High detection rate of circulating tumor cells in blood of patients with prostate cancer using telomerase activity. *Ann Oncol* 2007; 18: 518-521 [PMID: 17322541 DOI: 10.1093/annonc/mdl419]
 - 22 Savagner P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 7: vii89-vii92 [PMID: 20943648 DOI: 10.1093/annonc/mdq292]
 - 23 Lecharpentier A, Vielh P, Perez-Moreno P, Planchard D, Soria JC, Farace F. Detection of circulating tumour cells with a hybrid (epithelial/mesenchymal) phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 1338-1341 [PMID: 21970878]
 - 24 Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, Kimmig R, Fehm T. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res* 2012; 14: R15 [PMID: 22264265 DOI: 10.1186/bcr3099]
 - 25 Barrière G, Riouallon A, Renaudie J, Tartary M, Rigaud M. Mesenchymal and stemness circulating tumor cells in early breast cancer diagnosis. *BMC Cancer* 2012; 12: 114 [PMID: 22443102 DOI: 10.1186/1471-2407-12-114]
 - 26 Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol* 2012; 22: 396-403 [PMID: 22554795 DOI: 10.1016/j.semcancer.2012.04.001]
 - 27 Armstrong AJ, Marengo MS, Oltean S, Kemeny G, Bitting RL, Turnbull JD, Herold CI, Marcom PK, George DJ, Garcia-Blanco MA. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 997-1007 [PMID: 21665936 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0490]
 - 28 Mego M, Mani SA, Lee BN, Li C, Evans KW, Cohen EN, Gao H, Jackson SA, Giordano A, Hortobagyi GN, Cristofanilli M, Lucci A, Reuben JM. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast cancer: The effect of neoadjuvant therapy. *Int J Cancer* 2012; 130: 808-816 [PMID: 21387303 DOI: 10.1002/ijc.26037]
 - 29 Zhang Y, Li J, Cao L, Xu W, Yin Z. Circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma: detection techniques, clinical implications, and future perspectives. *Semin Oncol* 2012; 39: 449-460 [PMID: 22846862 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.05.012]
 - 30 Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331: 1559-1564 [PMID: 21436443 DOI: 10.1126/science.1203543]
 - 31 Pantel K, Alix-Panabières C, Riethdorf S. Cancer micrometastases. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 339-351 [PMID: 19399023 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.44]
 - 32 Balic M, Lin H, Young L, Hawes D, Giuliano A, McNamara G, Datar RH, Cote RJ. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5615-5621 [PMID: 17020963 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0169]
 - 33 Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Agelaki S, Kal-

应用要点

目前认为, 基于分子鉴定检测少数更具存活力和侵袭性的CTCs比单独CTCs计数更有价值。而在肿瘤转移过程中CTCs表现的多种生物学特性及其分子机制都可被用于分型, 并且可能成为个体化肿瘤诊疗的靶点。

同行评价

本文较为全面地综述了近年来循环肿瘤细胞CTCs分子鉴定的研究进展,介绍了CTCs分子分型促进个体化诊疗转化的研究现状和研究方向,具有较高的学术参考价值。

- lengi G, Saridaki Z, Mavroudis D, Georgoulas V. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. *Cancer Lett* 2010; 288: 99-106 [PMID: 19619935 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.06.027]
- 34 Wang J, Cao MG, You CZ, Wang CL, Liu SL, Kai C, Dou J. A preliminary investigation of the relationship between circulating tumor cells and cancer stem cells in patients with breast cancer. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2012; 58 Suppl: OL1641-OL1645 [PMID: 22340707]
- 35 Wang N, Shi L, Li H, Hu Y, Du W, Liu W, Zheng J, Huang S, Qu X. Detection of circulating tumor cells and tumor stem cells in patients with breast cancer by using flow cytometry: a valuable tool for diagnosis and prognosis evaluation. *Tumour Biol* 2012; 33: 561-569 [PMID: 22241087 DOI: 10.1007/s13277-011-0303-1]
- 36 Badve S, Nakshatri H. Breast-cancer stem cells-beyond semantics. *Lancet Oncol* 2012; 13: e43-e48 [PMID: 22225725 DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70191-7]
- 37 Aktas B, Tewes M, Fehm T, Hauch S, Kimmig R, Kasimir-Bauer S. Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently over-expressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R46 [PMID: 19589136 DOI: 10.1186/bcr2333]
- 38 Raimondi C, Gradilone A, Naso G, Vincenzi B, Petraccia A, Nicolazzo C, Palazzo A, Saltarelli R, Spremberg F, Cortesi E, Gazzaniga P. Epithelial-mesenchymal transition and stemness features in circulating tumor cells from breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130: 449-455 [PMID: 21298334 DOI: 10.1007/s10549-011-1373-x]
- 39 Nakshatri H, Srour EF, Badve S. Breast cancer stem cells and intrinsic subtypes: controversies rage on. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009; 4: 50-60 [PMID: 19149630 DOI: 10.2174/157488809787169110]
- 40 Riethdorf S, Müller V, Zhang L, Rau T, Loibl S, Komor M, Roller M, Huober J, Fehm T, Schrader I, Hilfrich J, Holms F, Tesch H, Eidtmann H, Untch M, von Minckwitz G, Pantel K. Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvant GeparQuattro trial. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2634-2645 [PMID: 20406831 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2042]
- 41 Punnoose EA, Atwal SK, Spoerke JM, Savage H, Pandita A, Yeh RF, Pirzkall A, Fine BM, Amler LC, Chen DS, Lackner MR. Molecular biomarker analyses using circulating tumor cells. *PLoS One* 2010; 5: e12517 [PMID: 20838621 DOI: 10.1371/journal.pone.0012517]
- 42 Ignatiadis M, Rothé F, Chaboteaux C, Durbecq V, Rouas G, Criscitiello C, Metallo J, Kheddoumi N, Singhal SK, Michiels S, Veys I, Rossari J, Larsimont D, Carly B, Pestrin M, Bessi S, Buxant F, Liebens F, Piccart M, Sotiriou C. HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer. *PLoS One* 2011; 6: e15624 [PMID: 21264346 DOI: 10.1371/journal.pone.0015624]
- 43 Lianidou ES, Markou A, Strati A. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer: challenges and promises for individualized cancer treatment. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31: 663-671 [PMID: 22692478 DOI: 10.1007/s10555-012-9366-8]
- 44 Aktas B, Müller V, Tewes M, Zeitz J, Kasimir-Bauer S, Loehberg CR, Rack B, Schneeweiss A, Fehm T. Comparison of estrogen and progesterone receptor status of circulating tumor cells and the primary tumor in metastatic breast cancer patients. *Gynecol Oncol* 2011; 122: 356-360 [PMID: 21605893 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.04.039]
- 45 Banys M, Krawczyk N, Becker S, Jakubowska J, Staebler A, Wallwiener D, Fehm T, Rothmund R. The influence of removal of primary tumor on incidence and phenotype of circulating tumor cells in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132: 121-129 [PMID: 21562707 DOI: 10.1007/s10549-011-1569-0]
- 46 Munzone E, Botteri E, Sandri MT, Esposito A, Adamioli L, Zorzino L, Sciandivasci A, Cassatella MC, Rotmensz N, Aurilio G, Curigliano G, Goldhirsch A, Nolè F. Prognostic value of circulating tumor cells according to immunohistochemically defined molecular subtypes in advanced breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2012; 12: 340-346 [PMID: 23040002 DOI: 10.1016/j.clbc.2012.07.001]
- 47 Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura CV, Inserra E, Diederichs S, Iafrate AJ, Bell DW, Digumarthy S, Muzikansky A, Irimia D, Settleman J, Tompkins RG, Lynch TJ, Toner M, Haber DA. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N Engl J Med* 2008; 359: 366-377 [PMID: 18596266 DOI: 10.1056/NEJMoa0800668]
- 48 Miyamoto DT, Lee RJ, Stott SL, Ting DT, Wittner BS, Ulman M, Smas ME, Lord JB, Brannigan BW, Trautwein J, Bander NH, Wu CL, Sequist LV, Smith MR, Ramaswamy S, Toner M, Maheswaran S, Haber DA. Androgen receptor signaling in circulating tumor cells as a marker of hormonally responsive prostate cancer. *Cancer Discov* 2012; 2: 995-1003 [PMID: 23093251 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0222]
- 49 de Bono JS, Attard G, Adjei A, Pollak MN, Fong PC, Haluska P, Roberts L, Melvin C, Repollet M, Chianese D, Connely M, Terstappen LW, Gualberto A. Potential applications for circulating tumor cells expressing the insulin-like growth factor-I receptor. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3611-3616 [PMID: 17575225 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0268]
- 50 Kang Y, Pantel K. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients. *Cancer Cell* 2013; 23: 573-581 [PMID: 23680145 DOI: 10.1016/j.ccr.2013.04.017]
- 51 Navin N, Hicks J. Future medical applications of single-cell sequencing in cancer. *Genome Med* 2011; 3: 31 [PMID: 21631906 DOI: 10.1186/gm247]
- 52 Cann GM, Gulzar ZG, Cooper S, Li R, Luo S, Tat M, Stuart S, Schroth G, Srinivas S, Ronaghi M, Brooks JD, Talasz AH. mRNA-Seq of single prostate cancer circulating tumor cells reveals recapitulation of gene expression and pathways found in prostate cancer. *PLoS One* 2012; 7: e49144 [PMID: 23145101 DOI: 10.1371/journal.pone.0049144]

编辑 田滢 电编 闫晋利



TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
张露艺, 硕士研究生, 主要从事急性胰腺炎发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81060043

广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. YCSZ2013034

作者贡献分布: 此课题由张露艺与唐国都设计; 研究过程由张露艺、唐曦平、梁志海、詹媛及李维维操作完成; 数据分析由张露艺与唐曦平完成; 本论文写作由张露艺完成; 唐国都进行批评性审阅。

通讯作者: 唐国都, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科. tguodu02@126.com.cn

电话: 0771-5356537

收稿日期: 2013-05-16 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an *in vitro* model

Lu-Yi Zhang, Guo-Du Tang, Xi-Ping Tang, Zhi-Hai Liang, Yuan Zhan, Wei-Wei Li

Lu-Yi Zhang, Guo-Du Tang, Xi-Ping Tang, Zhi-Hai Liang, Yuan Zhan, Wei-Wei Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060043; the Graduate Education Innovation Project of Guangxi, No. YCSZ2013034

Correspondence to: Guo-Du Tang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. tguodu02@126.com.cn

Received: 2013-05-16 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To explore the role of Toll-like receptor 9 (TLR9) in the pathogenesis of acute pancreatitis.

METHODS: After AR42J cells were stimulated with lipopolysaccharide at different concentrations (0, 1, 10, or 100 mg/L), the mRNA and protein expression of TLR9 and nuclear factor κ B (NF- κ B) p65 was determined by RT-PCR and Western blot, respectively. The contents of interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-6 proteins in culture supernatants were determined by ELISA.

RESULTS: Lipopolysaccharide up-regulated TLR9 and P65 mRNA and protein expression in a dose-dependent manner (mRNA: $F = 21.594$, 24.449 ; protein: $F = 23.193$, 24.891 , all $P < 0.01$). There was a positive correlation between the mRNA and protein expression of TLR9 and that of P65 (mRNA: $r = 0.942$, protein: $r = 0.900$, both $P = 0.000$). Lipopolysaccharide also increased the contents of IL-1 β and IL-6 protein in a dose-dependent manner ($F = 45.459$, 62.493 , both $P < 0.01$).

CONCLUSION: TLR9 may play a role in the pathogenesis of acute pancreatitis by up-regulating the expression of NF- κ B.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Toll-like receptor 9; Acute pancreatitis; Lipopolysaccharide; NF- κ B p65; AR42J cells

Zhang LY, Tang GD, Tang XP, Liang ZH, Zhan Y, Li WW. Role of TLR9 in pathogenesis of lipopolysaccharide-induced acute pancreatitis in an *in vitro* model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2685-2689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2685>

摘要

目的: 探讨Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)在急性胰腺炎发病机制中的作用。

方法: 不同浓度脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(0、1、10、100 mg/L)刺激AR42J细胞后, RT-PCR法与Western blot法分别检测TLR9、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)P65 mRNA和蛋白质表达的变化, 并分析TLR9、P65的相关性; ELISA法检测培养上清液白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)含量。

结果: 与空白对照组相比, LPS刺激后TLR9、P65 mRNA与蛋白质表达升高, 呈浓度依赖性, 各组间有显著性差异(mRNA: $F = 21.594$, $F = 24.449$; 蛋白质: $F = 23.193$, $F = 24.891$, 均 $P < 0.01$), 相关性分析: $r = 0.942$, $r = 0.900$, 均 P

■背景资料

Toll样受体是进化中比较保守的一个受体家族, 目前发现13个成员。TLRs能特异地识别病原相关的分子模式和损伤相关性模式分子, 是连接天然免疫和获得性免疫的桥梁。近年来, TLRs信号转导的研究在急性胰腺炎中的作用受到越来越多的关注。

■同行评议者

谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

■研究前沿

本研究最先检测脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激具有正常胰腺腺泡细胞功能的AR42J后, 细胞内TLR9 mRNA、蛋白质的表达变化, 同时检测TLR9下游分子核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的表达变化, 并且应用ELISA技术检测培养上清液中白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6的浓度, 以探讨TLR9在急性胰腺炎炎症效应中的作用机制。

■相关报道

多项研究显示, 急性胰腺炎时TLR2、TLR4表达水平增强, 通过NF- κ B炎症通路参与急性胰腺炎的发病机制, 而Toll样受体家族中, 是否还有其他成员参与该炎症反应, 作用机制如何, 少有相关报道。

= 0.000, TLR9、P65呈正相关。上清液IL-1 β 、IL-6含量随LPS浓度增加而上升, 组间差异有统计学意义($F = 45.459$, $F = 62.493$, 均 $P < 0.01$)。

结论: LPS刺激AR42J细胞诱导的炎症效应中, TLR9表达上调, 可能通过激活NF- κ B, 从而促进炎症因子合成与分泌, 参与急性胰腺炎发病机制。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Toll样受体9; 急性胰腺炎; 脂多糖; 核因子 κ B; AR42J细胞

核心提示: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激损伤AR42J细胞使其释放自身DNA等损伤相关性分子模式, 被Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)模式识别而激活TLR9, 进而通过经典的Toll样受体炎症通路, 活化并上调核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B), NF- κ B进入细胞核调控并介导炎症因子表达上调, 从而放大炎症反应。

张露艺, 唐国都, 唐曦平, 梁志海, 詹媛, 李维维. TLR9在脂多糖诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中的作用研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2685-2689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2685>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)为临床常见疾病之一, 但其发病机制尚未完全清楚。多项研究表明脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)参与了AP发病机制。Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)家族是天然免疫的门户, 在炎症、自身免疫、肿瘤发生发展等方面发挥重要作用^[1-3], 日益成为研究的热点。近年来研究发现, TLR9与TLR2、TLR4一样, 是与AP发病机制有密切关系的Toll样受体家族成员之一^[4], 但其具体的作用机制尚未明了, 国内亦未见相关研究报道。核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是广泛表达于体内细胞的转录因子, 研究表明, 其在Toll样受体通路中发挥了细胞信号转导作用^[5]。本实验以具有正常大鼠胰腺腺泡细胞功能的AR42J细胞株为研究对象, LPS刺激造成AP体外模型^[6,7], 初步探讨TLR9在AP中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠胰腺腺泡细胞株AR42J购自美国典型培养物保藏中心(american type culture collection, ATCC); LPS粉末购自Sigma公司; TRIzol

购自Omega公司; 逆转录试剂盒、RT-PCR Taq酶购自Fermenta公司; DNA Marker购自天根生化科技有限公司; 总蛋白提取试剂盒、BCA试剂盒购自碧云天公司; 小鼠抗大鼠Toll样受体9单克隆抗体购自Imgenex公司; 小鼠抗大鼠NF- κ B P65单克隆抗体购自Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶HRP标记的小鼠抗大鼠 β -actin多克隆抗体购自Proteintech公司; 大鼠TLR9、P65 PCR引物由上海生工公司合成; 白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6 ELISA试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物干预: 用含20%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 mg/L链霉素的F12K培养基在50 mL/L CO₂、湿度饱和的37 °C培养箱中培养, 隔天更换培养基1次, 用含0.25%EDTA胰蛋白酶消化, 1:3传代。取经传代2次的对数生长期细胞, 以1×10⁶细胞/孔接种于6孔培养板中, 培养24 h后换液, 分别再加入含不同浓度LPS(0、1、10、100 mg/L)的培养基, 在培养箱中继续孵育24 h, 收集细胞和培养上清液备用, 每组设3个复孔。

1.2.2 细胞总RNA提取及RT-PCR法检测TLR9、P65 mRNA表达的变化: 总RNA的提取参照Omega公司的TRIzol试剂说明书进行, 并采用分光光度计测RNA浓度及纯度。取1 μ g总RNA逆转录成cDNA备用, 流程参照逆转录试剂盒说明书。PCR反应条件: 95 °C 4 min, 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 35个循环, 72 °C 7 min。TLR9引物: 上游5'-GCT GTC AAT GGC TCT CAG TTC -3', 下游5'-GGG AGG TAG TTG AGG TTC TGG -3', 产物长度425 bp; P65引物: 上游5'-ATC TGT TTC CCC TCA TCT TTC C-3', 下游5'-TGC GTC TTA GTG GTA TCT GTG C-3', 产物长度166 bp; 内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)引物: 上游5'-CAT GGT CTA CAT GTT CCA GT-3', 下游5'-GGC TAA GCA GTT GGT GGT GC-3', 产物长度349 bp。凝胶成像系统扫描计算条带灰度值。

1.2.3 细胞总蛋白提取及Western blot法测TLR9、P65蛋白表达的变化: 试剂盒提取细胞总蛋白, BCA法测蛋白浓度。各组取50 μ g蛋白上样, 按流程电泳、转膜、牛奶封闭后一抗4 °C孵育过夜, TLR9、P65、 β -actin一抗工作浓度为(1:500、1:400、1:8000), 二抗(1:10000)室温孵育1 h, 化学发光胶片曝光显影。图像分析仪

表 1 各组TLR9、P65 mRNA与蛋白质表达量的变化 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组(mg/L)	TLR9 mRNA	P65 mRNA	TLR9蛋白	P65蛋白
0	0.06 \pm 0.05	0.38 \pm 0.03	0.20 \pm 0.16	0.07 \pm 0.05
1	0.31 \pm 0.03 ^b	0.58 \pm 0.11 ^b	0.67 \pm 0.33 ^b	0.47 \pm 0.08 ^b
10	0.55 \pm 0.15 ^b	0.79 \pm 0.15 ^b	1.24 \pm 0.31 ^b	0.85 \pm 0.22 ^b
100	0.84 \pm 0.16 ^b	1.06 \pm 0.38 ^b	1.80 \pm 0.13 ^b	1.46 \pm 0.56 ^b

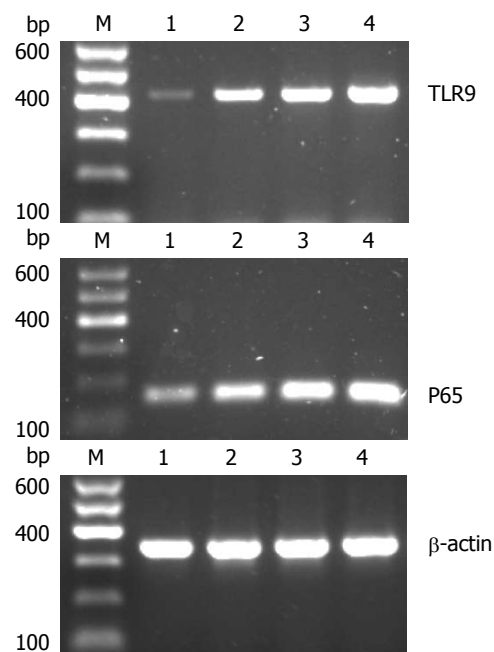
^b $P < 0.01$ vs 0 mg/L组. TLR9: Toll样受体9.

图 1 不同浓度脂多糖刺激后各组细胞TLR9、P65 mRNA的表达. M: Marker; 1: 0 mg/L; 2: 1 mg/L; 3: 10 mg/L; 4: 100 mg/L. TLR9: Toll样受体9.

行胶片扫描, 分析灰度值.

1.2.4 ELISA法检测细胞培养上清IL-1 β 、IL-6的含量: 收集干预24 h后各组细胞培养上清液, 离心去除杂质及细胞碎片, 按ELISA试剂盒说明书操作, 酶标仪450 nm波长测量A值. 以标准品浓度及其A值制作标准曲线, 据样品的A值计算相应指标的浓度.

统计学处理 应用SPSS16.0统计学软件, 多组比较行One-Way ANOVA方差分析并用SNK(student-newman-keuls, SNK)法进行两两比较, 数据以mean \pm SD表示, TLR9与P65相关性用Pearson相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同浓度LPS处理后TLR9、P65 mRNA表达的变化 RT-PCR结果如图1、表1所示, 与

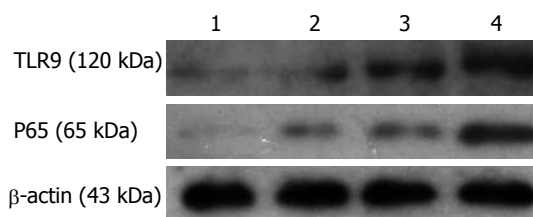


图 2 不同浓度脂多糖处理后各组细胞TLR9、P65蛋白质的表达. 1: 0 mg/L; 2: 1 mg/L; 3: 10 mg/L; 4: 100 mg/L. TLR9: Toll样受体9.

空白对照组相比, 加入LPS刺激后TLR9、P65 mRNA表达呈浓度依赖性增加, 两者表达量分别为: 0.06 \pm 0.05 vs 0.31 \pm 0.03, 0.55 \pm 0.15, 0.84 \pm 0.16, 差异具有统计学意义($F = 21.594$, $P < 0.01$); 0.38 \pm 0.03 vs 0.58 \pm 0.11, 0.79 \pm 0.15, 1.06 \pm 0.38, 差异具有统计学意义($F = 24.449$, $P < 0.01$); TLR9与P65 mRNA表达量的Pearson相关分析结果: $r = 0.942$, $P < 0.01$, 提示两者呈正相关性.

2.2 不同浓度LPS处理后TLR9、P65蛋白质表达的变化 Western blot结果如图2、表1所示, 与空白对照组相比, 加入LPS刺激后TLR9、P65蛋白质表达呈浓度依赖性增加, 两者表达量分别为: 0.20 \pm 0.16 vs 0.67 \pm 0.33, 1.24 \pm 0.31, 1.80 \pm 0.13, 差异具有统计学意义($F = 23.193$, $P < 0.01$); 0.07 \pm 0.05 vs 0.47 \pm 0.08, 0.85 \pm 0.22, 1.46 \pm 0.56, 差异有统计学意义($F = 24.891$, $P < 0.01$). TLR9与P65蛋白表达量的Pearson相关分析: $r = 0.900$, $P < 0.01$, 提示呈正相关性.

2.3 不同浓度LPS处理后细胞培养上清液IL-1 β 、IL-6的含量 如表2所示, 与空白对照组相比, 加入LPS刺激后上清液中IL-1 β 、IL-6含量随LPS浓度升高而增加, 两者浓度分别为: 6.84 pg/mL \pm 2.01 pg/mL vs 22.21 pg/mL \pm 2.85 pg/mL, 51.26 pg/mL \pm 13.69 pg/mL, 75.95 pg/mL \pm 7.04 pg/mL ($F = 45.459$, $P < 0.01$); 24.59 pg/mL \pm 15.74 pg/mL vs 74.07 pg/mL \pm 10.77 pg/mL, 140.28 pg/

■创新盘点

Toll样受体被认为是哺乳动物唯一将胞外抗原识别信息向细胞内传递并引发炎症反应的关键跨膜蛋白. 研究认为TLR4可与革兰阴性细菌内毒素LPS结合, 活化NF- κ B信号通路, 导致炎症因子瀑链式释放而产生急性胰腺炎的生物学效应. TLR9在急性胰腺炎的发病机制中是否也具有类似的作用, 目前尚鲜有报道.

■应用要点

本研究显示TLR9在急性胰腺炎的发病机制中发挥重要作用, 在往后的临床新药研究中, 可研发TLR9的阻断剂, 治疗急性胰腺炎时应用, 阻断TLR9在炎症中的作用, 减少下游炎症介质的释放从而达到治疗急性胰腺炎的目的.

■名词解释

病原相关分子模式: 病原微生物及其产物中某些共有的、非特异性的、高度保守的分子模式, 包括细菌LPS、脂磷壁酸、细菌DNA、病毒RNA等; 损伤相关性模式分子: 组织或细胞受到损伤、缺氧、应激等因素刺激后释放到细胞间隙或血液循环中的一类物质, 如高迁移率族蛋白B1、S100蛋白、热休克蛋白、自身DNA等。

表 2 各组细胞培养上清液中IL-1 β 、IL-6含量的变化(pg/mL)

分组(mg/L)	IL-1 β	IL-6
0	6.84 \pm 2.01	24.59 \pm 15.74
1	22.21 \pm 2.85 ^b	74.07 \pm 10.77 ^b
10	51.26 \pm 13.69 ^b	140.28 \pm 21.50 ^b
100	75.95 \pm 7.04 ^b	178.85 \pm 8.81 ^b

^b $P < 0.01$ vs 0 mg/L组. IL: 白介素。

mL \pm 21.50 pg/mL, 178.85 pg/mL \pm 8.81 pg/mL, 差异具有统计学意义($F = 62.493$, $P < 0.01$)。

3 讨论

Vaccaro等^[6]报道, LPS刺激可直接造成胰腺腺泡细胞损伤, 使细胞形成胞质液泡、胞核改变及DNA断裂。因此本实验以不同浓度LPS刺激AR42J细胞以构建急性胰腺炎体外细胞模型。Toll样受体家族属于I型跨膜受体, 近年在急性胰腺炎中的作用日益引起关注, 其分为富含亮氨酸的胞外区、跨膜区和胞内高度保守的Toll/IL-1受体同源域(Toll/IL-1-receptor homologous region, TIR)结构, 胞外区模式识别病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)和损伤相关性模式分子(damage associated molecular patterns, DAMPs), 激活固有免疫, 调节获得性免疫。PAMPs即病原微生物及其产物中某些共有的、非特异性的、高度保守的分子模式, 包括细菌LPS、脂磷壁酸、细菌DNA、病毒RNA等。DAMPs是指细胞损伤时从细胞内释放到细胞外的一类物质, 包括高迁移率族蛋白B1(HMGB1)、S100蛋白、热休克蛋白、DNA等^[8]。TLR9作为Toll样受体家族成员之一, 由Hemmi等^[9]于2000年首次在小鼠中发现, 识别PAMPs和DAMPs, 在炎症、自身免疫、肿瘤等方面的发挥重要作用。TLR9位于细胞内体膜上, 特异性配体为含有非甲基化的胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(cytosine phosphate-guanosine, CPG)的DNA片段CPG-DNA, 经内吞作用后结合并激活TLR9, 继而产生炎症效应^[5]。近年来研究发现, TLR9可识别自身DNA^[10]。本实验中, 不同浓度LPS刺激具有正常胰腺腺泡细胞功能的AR42J细胞后, AR42J细胞损伤释放自身DNA, 被TLR9模式识别而激活TLR9, 使TLR9 mRNA与蛋白质表达都随浓度升高而增强, 提示TLR9在AP的发生发展中发挥重要作用, 与Hoque等^[11]的研究得出了相同的结论。

NF- κ B是核转录因子蛋白家族, 是TLR家族介导的炎症通路的下游分子, 最常见的NF- κ B二聚体为P65与P50组成^[12]。抑制蛋白- κ B(inhibitor protein- κ B, I κ B)是NF- κ B的抑制蛋白, 可被活化的I κ B激酶(I κ B kinase, I κ K)降解。本实验选择检测P65来衡量NF- κ B的激活合成状态。静息状态下NF- κ B在胞质中与I κ B结合, 应激时I κ K激活, 降解I κ B, 使NF- κ B活化进入细胞核, 调控DNA的转录, 使细胞转录生成大量炎症因子, 参与炎症反应^[13]。其中IL-1 β 是重要的炎症介质, 能引起中性粒细胞、嗜碱性粒细胞释放颗粒物质, 促进B、T淋巴细胞分裂, 其浓度可评价AP的炎症严重程度及腺泡细胞的损伤程度; 而IL-6急性期炎症的重要细胞因子, 临床上常用血清IL-6浓度评价AP的严重程度^[14,15]。本实验结果显示NF- κ B mRNA、蛋白质随LPS浓度升高而表达增强, 趋势与TLR9相同, 而同时培养上清液中促炎症因子IL-1 β 及IL-6也浓度依赖性升高, 提示AP炎症程度随LPS浓度升高而逐渐增高。经Pearson相关性分析示, 在mRNA及蛋白质水平, TLR9与NF- κ B均有正相关关系, r 值分别为0.942、0.9, 由此推测, TLR9可能通过NF- κ B炎症通路在AP炎症效应发挥作用。其可能的机制为: LPS刺激造成AR42J细胞损伤后, 细胞释放自身DNA等损伤相关分子, TLR9模式识别DNA分子而被激活, 导致其表达上调^[11]。TLR9被激活后通过经典的Toll样受体炎症通路, 活化并上调NF- κ B, NF- κ B进入细胞核调控并介导炎症因子表达上调, 从而放大炎症反应^[16]。

总之, 本研究提示, TLR9在LPS诱导的急性胰腺炎体外细胞模型中可能发挥了重要作用, 其作用机制可能与其下游的经典炎症通路NF- κ B通路关系密切, 这可能为急性胰腺炎的发病机制及临床治疗等研究提供实验基础。

4 参考文献

- 1 Richez C, Blanco P, Rifkin I, Moreau JF, Schaefferbeke T. Role for toll-like receptors in autoimmune disease: The example of systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine* 2011; 78: 124-130 [PMID: 20961794 DOI: 10.1016/j.jbspin.2010.09.005]
- 2 Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; 11: 373-384 [PMID: 20404851 DOI: 10.1038/ni.1863]
- 3 Hirsch I, Caux C, Hasan U, Bendriss-Vermare N, Olive D. Impaired Toll-like receptor 7 and 9 signaling: from chronic viral infections to cancer. *Trends Immunol* 2010; 31: 391-397 [PMID: 20832362 DOI: 10.1016/j.it.2010.07.004]

- 4 Vaz J, Akbarshahi H, Andersson R. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 616-630 [PMID: 23431068 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.616]
- 5 Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology* 2005; 17: 1-14 [DOI: 10.1093/intimm/dxh186]
- 6 Vaccaro MI, Calvo EL, Suburo AM, Sordelli DO, Lanosa G, Iovanna JL. Lipopolysaccharide directly affects pancreatic acinar cells: implications on acute pancreatitis pathophysiology. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 915-926 [PMID: 10795755]
- 7 Jaworek J, Jachimczak B, Bonior J, Kot M, Tomaszewska R, Karczewska E, Stachura J, Pawlik W, Konturek SJ. Protective role of endogenous nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide--induced pancreatic damage (a new experimental model of acute pancreatitis). *J Physiol Pharmacol* 2000; 51: 85-102 [PMID: 10768853]
- 8 Nakamura T, Ito T, Igarashi H, Uchida M, Hijioka M, Oono T, Fujimori N, Niina Y, Suzuki K, Jensen RT, Takayanagi R. Cytosolic double-stranded DNA as a damage-associated molecular pattern induces the inflammatory response in rat pancreatic stellate cells: a plausible mechanism for tissue injury-associated pancreatitis. *Int J Inflam* 2012; 2012: 504128 [PMID: 22550608 DOI: 10.1155/2012/504128]
- 9 Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000; 408: 740-745 [PMID: 11130078 DOI: 10.1038/35047123]
- 10 Holm CK, Paludan SR, Fitzgerald KA. DNA recognition in immunity and disease. *Curr Opin Immunol* 2013; 25: 13-18 [PMID: 23313533 DOI: 10.1016/j.coi.2012.12.006]
- 11 Hoque R, Sohail M, Malik A, Sarwar S, Luo Y, Shah A, Barrat F, Flavell R, Gorelick F, Husain S, Mehal W. TLR9 and the NLRP3 inflammasome link acinar cell death with inflammation in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 358-369 [PMID: 21439959 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.041]
- 12 Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004; 18: 2195-2224 [PMID: 15371334 DOI: 10.1101/gad.1228704]
- 13 Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a001651 [PMID: 20457564 DOI: 10.1101/cshperspect.a001651]
- 14 Kylänpää ML, Repo H, Puolakkainen PA. Inflammation and immunosuppression in severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2867-2872 [PMID: 20556831]
- 15 赵洪礼, 吴战军. 细胞因子与重症急性胰腺炎关系研究进展. *临床消化病杂志* 2010; 18: 61-63
- 16 Hemmi H, Kaisho T, Takeda K, Akira S. The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. *J Immunol* 2003; 170: 3059-3064 [PMID: 12626561]

■同行评价

本文具有一定的新颖性. 从分子、细胞学层面进行分析, 结果提供了充足且有意义的信息, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明

■背景资料

白术具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 现代药理学研究表明, 白术是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能.

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明, 河南中医学院 河南省郑州市 450008

高小玲, 主要从事中西医结合的基础研究.

河南中医学院博士启动基金资助项目, No. 2010BSJJ-12

河南省教育厅科学自然基金资助项目, No. 2010B360004

作者贡献分布: 高小玲与汪保英对此文所作贡献均等; 此课题由高小玲、陈玉龙及白明设计; 研究过程由高小玲、汪保英及宰炎冰操作完成; 数据分析由高小玲与汪保英完成.

通讯作者: 白明, 副教授, 450008, 河南省郑州市金水东路1号, 河南中医学院科研处科研实验中心. baiming666@126.com

收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-07-13

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Supported by: the Doctoral Fund of Henan College of Traditional Chinese Medicine, No. 2010BSJJ-12; the Natural Science Foundation of Educational Department of Henan Province, No. 2010B360004

Correspondence to: Ming Bai, Associate Professor, Henan College of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui East Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. baiming666@126.com

Received: 2013-06-24 Revised: 2013-07-13

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To observe the effect of atractylenolides I, II, and III on the proliferation of mouse colon cancer cells.

METHODS: CT26 cells were seeded in 96-well plates and treated with different concentrations of atractylenolide I, II, or III (200, 100, 50, 25, 12.5, or 6.25 $\mu\text{g/mL}$) for 24 h. After culture for an additional 48 h, the proliferation of CT26 cells was detected by MTT assay to screen atractylenolides' active ingredient that had the best inhibitory effect. CT26 cells were then treated with the screened atractylenolides' active ingredient at different doses for different durations (24, 48, 72 h).

RESULTS: Atractylenolide II had the best inhibitory effect on the proliferation of CT26 cells.

The optimal dose was 50 $\mu\text{g/mL}$, and the best delivery time was 48 h.

CONCLUSION: Atractylenolide II can significantly reduce the proliferation of mouse colon cancer cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Atractylenolide; Proliferation; CT26 cells

Gao XL, Wang BY, Chen YL, Zai YB, Bai M. Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2690-2693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2690>

摘要

目的: 观察白术内酯 I、II、III 对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响.

方法: CT26细胞种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯 I、II、III 200、100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{g/mL}$, 放置培养箱48 h后, MTT法检测白术内酯 I、II、III 不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响; 筛选对CT26抑制效果好的白术有效成分, 检测其不同剂量给药后24、48、72 h后CT26细胞增殖能力的影响.

结果: 白术内酯 II 抑制CT26细胞增殖能力最为明显, 其最合适给药剂量为50 $\mu\text{g/mL}$, 最佳给药时间为48 h.

结论: 白术内酯 II 可能是抑制肿瘤细胞增殖的主要成分之一.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白术内酯; 增殖; CT26细胞

核心提示: 白术内酯 I、II、III 对小鼠结肠癌细胞均有增殖抑制作用. 以白术内酯 II 效果最为理想, 说明对于消化系统肿瘤, 白术内酯 II 可以起到较好的作用.

■同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院 外科

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明. 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2690-2693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2690>

0 引言

白术为菊科苍术属(*Atractylodes macrocephala* koidz)多年生草本植物白术的根茎, 为常用中药. 具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 临床多用于脾虚证, 生用或炮制应用^[1]. 现代药理学研究表明, 其主要含有挥发油成分和内酯类成分, 是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能, 抑制氧化应激及随后触发的炎症反应而起到抗IBD的作用^[2,3], 其中内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用^[4,5], 并具有调节胃肠道功能和促进营养物质吸收的功效^[6]. 但目前白术中哪些化学成分是抗肿瘤成分尚且没有定论. 由此, 我们选择了小鼠结肠癌CT26细胞, 观察白术有效成分白术内酯 I、II、III对其增殖能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 白术内酯 I, 批号MUST-13012005, 白术内酯 II, 批号MUST-13012007, 白术内酯 III, 批号MUST-13012007, 中国科学院成都生物研究所研制; 1640培养基, Lot. No. 20130411, 胰蛋白酶-EDTA消化液, Lot. No. 20130124, solarbio产品; 胎牛血清, 批号: 120509, 浙江天杭生物科技有限公司; MTT、DMSO, Genebase公司产品; 台盼蓝, Sigma公司产品; MTT, Amresco产品; 牛胰岛素insulin: Sigma产品; CT26细胞, 广州中医药大学脾胃研究所赠送; Sigma低温高速离心机, ELX800UV酶标仪.

1.2 方法

1.2.1 CT26细胞的培养传代: 取液氮保存的CT26细胞, 37 °C水浴使迅速融化, 将冻存液转移至离心管, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 加入2 mL 1640完全培养液, 重新悬浮沉淀细胞, 接种于培养瓶, 37 °C、50 mL/L CO₂培养, 次日换液. 至80%左右融合时, 用0.25%胰酶-0.53 mmol/L EDTA消化传代.

1.2.2 细胞种植及给药: CT26细胞消化计数, 按照 1×10^4 个/孔种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯 I、II、III 200、100、50、25、12.5、6.25 μ g/mL, 每组3个复孔, 48 h后MTT法检测白术内酯 I、II、III各个剂量对CT26细胞增殖能

力的影响, 选择白术最佳有效成分进行时效实验.

1.2.3 MTT法检测细胞增殖能力: 细胞给药后一定时间, 每孔中各加入20 μ L MTT液(5 mg/mL); 然后在37 °C、50 mL/L CO₂培养箱中继续培养4 h, 弃上清, 每孔加入DMSO 150 μ L, 充分振荡10 min; 用酶标仪在570 nm波长处测A值, 同时设置空白对照孔^[7].

统计学处理 采用SPSS11.0软件, 进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 白术内酯 I、II、III不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响 细胞种植24 h后, 给予不同剂量的白术内酯 I、II、III, MTT法检测给药48 h后CT26细胞增殖能力的变化(图1).

与空白对照组相比, 白术内酯 I、II、III 200、100 μ g/mL剂量均对CT26细胞有明显的抑制作用($P < 0.01$); 白术内酯 II、III 50 μ g/mL均对CT26有抑制作用($P < 0.01$), 实验重复了3次, 结果均表明, 白术内酯 II 50 μ g/mL较白术内酯 I、III 50 μ g/mL抑制作用效果好; 白术内酯 I、II、III 6.25 μ g/mL效果不明显.

2.2 白术内酯 II不同剂量及时间对CT26细胞增殖能力的影响 根据以上结果, 选用白术内酯 II不同剂量进行时效实验. 细胞种植24 h后, 分别给予白术内酯 II 200、100、50、25、12.5 μ g/mL, 给药后24、48、72 h检测CT26细胞增殖能力的变化(图2).

与空白对照组比较, 白术内酯 II 200、100、50 μ g/mL在给药后24、48、72 h抑制效果明确($P < 0.01$), 其中给药后48 h最为明显.

3 讨论

白术是传统的健脾药物, 而白术内酯是从白术中提取的有效成分. 对于白术主要有效成分及白术内酯 I、II、III的作用一直没有明确的定论. 有研究表明^[8,9], 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死而具有抑瘤作用, 白术内酯 I能抑制人白细胞株HL-60和小鼠白血病细胞株的P-388的生长^[10], 白术内酯 II能够抑制B16黑色素瘤细胞的增殖^[11], 白术内酯 III可通过诱导肺癌细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长和增加乳酸脱氢酶的释放^[12]. 目前, 对于白术内酯 I和III对肿瘤的抑制作用研究较多, 因此, 有学者认为白术内酯 I、白术内酯 III为抗炎、抗癌有效成分^[13].

■研究前沿

研究表明, 内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用. 但是对白术内酯 I、II、III的作用尚且没有定论.

■相关报道

有研究表明, 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死, 认为白术内酯 I、白术内酯 III为抗炎、抗癌有效成分, 也有研究表明, 白术内酯 I可提高大鼠尿中木糖排泄率, 增强淀粉酶活性的作用, 认为白术内酯 I能促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能, 可能是白术健脾的有效成分之一.

■创新亮点

本实验首次证实,白术内酯 I、II、III 均能抑制 CT26 细胞的增殖,但是以白术内酯 II 效果最为理想。

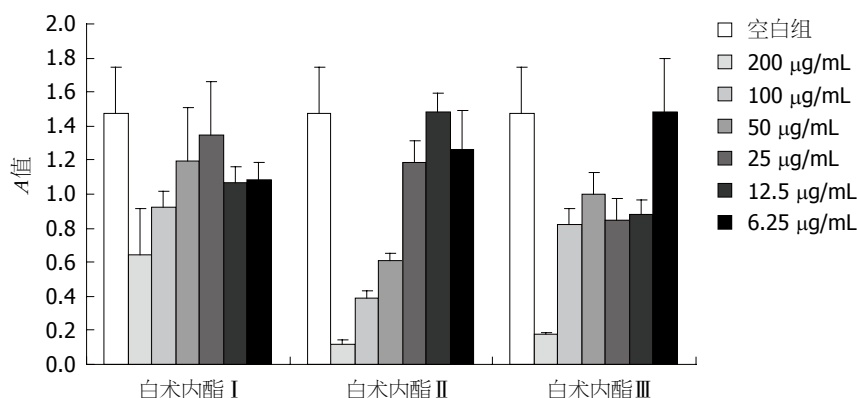


图 1 白术内酯 I、II、III 不同剂量对 CT26 细胞增殖能力的影响。

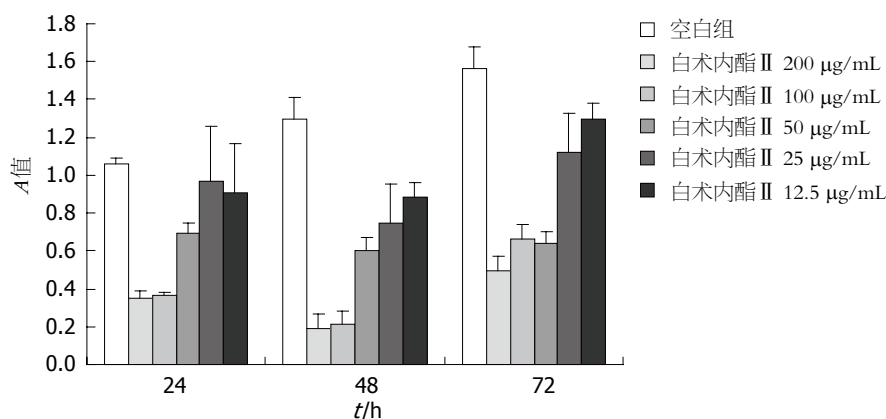


图 2 白术内酯 II 不同剂量及时间对 CT26 细胞增殖能力的影响。

也有研究表明,白术内酯 I 可提高大鼠尿中木糖排泄率,增强淀粉酶活性的作用^[14],促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能,可能是白术健脾运脾的有效成分之一^[6]。而白术内酯 III 对 PC12 细胞缺氧损伤、兴奋性氨基酸损伤、高钙损伤有不同程度的保护作用^[15]。

我们的研究表明,白术内酯 I、II、III 200、100、50 μg/mL 剂量对小鼠结肠癌细胞增殖抑制效果非常明显。其中以白术内酯 II 效果最为理想,实验重复 3 次结果也比较接近。考虑到药物溶解试剂 DMSO 有一定的毒性,白术内酯 50 μg/mL 已经可以达到预期效果,而且剂量也接近细胞的半数抑制率。在此基础上,我们也对白术内酯 II 不同剂量在不同时间对 CT26 细胞增殖能力的影响,证实是给药后 48 h 检测细胞的抑制效果比较理想,一方面让药物充分吸收,另一方面也避免了给药时间过久未被抑制的细胞出现的过度增殖。

本实验证实,白术内酯 I、II、III 均能抑制 CT26 细胞的增殖,但是以白术内酯 II 效果最为理想,说明对于结肠肿瘤,白术内酯 II 的效果优

于白术内酯 I、III,白术内酯 II 对于结肠癌的治疗能够起到较好的作用。本实验首次在小鼠结肠癌细胞上进行白术有效成分的抗癌活性研究,为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证。我们也将后续实验中对白术的健脾成分进行研究。

4 参考文献

- 1 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部). 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68
- 2 游宇, 刘玉晖, 高书亮. 参苓白术散抗小鼠炎症性肠病的机制研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 136-140
- 3 向小庆, 叶红. 白术抗肿瘤作用的研究及应用进展. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 367-370
- 4 Liu Y, Jia Z, Dong L, Wang R, Qiu G. A randomized pilot study of atractylenolide I on gastric cancer cachexia patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008; 5: 337-344 [PMID: 18830451]
- 5 赵桂芝, 洪学智, 戴诗文, 寿旦, 王绪平. 白术内酯的药学研究进展. 中国药房 2009; 2: 230-240
- 6 郝延军, 桑育黎, 王勤, 李宝林, 贾天柱. 白术内酯 I、III 对脾虚大鼠胃肠道消化吸收的影响. 中华中医药学会第五届中药炮制学术会议论文集 2005: 215-217
- 7 高小玲. CT26 细胞 RPS20 miRNA 干扰及体内干扰条件建立. 广州中医药大学, 2010
- 8 刘映, 叶峰, 邱根全, 章梅, 王锐, 何群英, 蔡云. 白术内

■应用要点

本实验为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证,并未白术的健脾成分的研究提供了基础。

- 酯I对肿瘤恶病质患者细胞因子和肿瘤代谢因子的影响. 第一军医大学学报 2005; 25: 1308-1311
- 9 郑广娟. 白术对小鼠S180肉瘤的抑瘤作用及肿瘤凋亡相关基因bcl-2表达的影响. 生物医学工程研究 2003; 3: 48-50
- 10 Wang CC, Lin SY, Cheng HC, Hou WC. Pro-oxidant and cytotoxic activities of atractylenolide I in human promyeloleukemic HL-60 cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1308-1315 [PMID: 16624472]
- 11 Ye Y, Wang H, Chu JH, Chou GX, Chen SB, Mo H, Fong WF, Yu ZL. Atractylenolide II induces G1 cell-cycle arrest and apoptosis in B16 melanoma cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 136: 279-282 [PMID: 21524699]
- 12 DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.020
Dong H, He L, Huang M, Dong Y. Anti-inflammatory components isolated from *Atractylodes macrocephala* Koidz. *Nat Prod Res* 2008; 22: 1418-1427 [PMID: 19023804 DOI: 10.1080/14786410801931629]
- 13 彭腾, 李鸿翔, 邓赞, 邱建平, 贺钢民, 范静骞. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展. 中国药房 2012; 23: 3732-3734
- 14 郝延军, 桑育黎, 李宝林, 王勒, 贾天柱. 白术内酯 I 及白术内酯 III 对唾液淀粉酶活性的影响. 时珍国医国药 2006; 7: 1617-1618
- 15 罗兰, 孙悦. 白术内酯 III 对神经细胞损伤的影响. 时珍国医国药 2012; 23: 560-570

■同行评价

本文写作较为严谨、科学, 有一定创新性, 能较好地反映大肠癌的临床和基础研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法. 定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种. 参加核心期刊评审的学科专家达8200多位. 经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录. 在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)

食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比

芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅

■背景资料

食管静脉曲张(esophageal varices, EV)属于肝硬化患者晚期较常遇到的一类并发症, 临床发病率约为40%。出血是本病最主要的临床表现, 而且往往存在反复性。本病的临床致死率较高, 为25%-45%。内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是目前常用的物理预防止血办法, 但是一些患者由于多次进行EVL, 造成门静脉压力上升, 复发曲张静脉的概率增加。

芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅, 青海大学附属医院消化科 青海省西宁市 810001

芦永福, 副教授, 副主任医师, 主要从事酒精性肝病和肝硬化的研究。

作者贡献分布: 此研究由芦永福设计; 实施过程在芦永福指导下由郜茜、王韵及蒋汉梅完成; 数据处理由郜茜与王韵完成; 论文写作由芦永福完成。

通讯作者: 芦永福, 副教授, 副主任医师, 810001, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院消化科。

luyongfu_qh@163.com

收稿日期: 2013-07-05 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices

Yong-Fu Lu, Qian Gao, Yun Wang, Han-Mei Jiang

Yong-Fu Lu, Qian Gao, Yun Wang, Han-Mei Jiang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Yong-Fu Lu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810001, Qinghai Province, China. luyongfu_qh@163.com

Received: 2013-07-05 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To compare the curative effect of endoscopic variceal ligation (EVL) versus oral propranolol in the management of esophageal varices (EV).

METHODS: One hundred patients with liver cirrhosis and EV were divided into either an observation group or a treatment group. The observation group underwent EV, while the control group was given oral propranolol. The curative effect and side effects were compared between the two groups.

RESULTS: The patients were followed for a period of 18-36 mo. There were no significant differences in the rate of hemorrhage (22.86%

vs 20.0%, $P > 0.05$), overall mortality (22.86% vs 17.14%, $P > 0.05$), and bleeding-related mortality (11.43% vs 8.57%, $P > 0.05$) between the control group and observation group. However, the incidence of side effects was significantly lower in the observation group than in the control group (20.0% vs 51.43%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Both EVL and oral propranolol have good curative effect on liver cirrhosis-associated EV. The side effects associated with propranolol are much less than those with EVL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic variceal ligation; Oral propranolol; Esophageal varices; Haemorrhage; Side effects

Lu YF, Gao Q, Wang Y, Jiang HM. Curative effect of endoscopic variceal ligation versus oral propranolol in management of esophageal varices. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2694-2697 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2694>

摘要

目的: 观察食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张(esophageal varices, EV)的临床疗效对比。

方法: 对140例临床诊断为肝硬化EV患者进行分组疗效观察, 观察组治疗为EVL, 对照组为口服普萘洛尔。观察两组患者的疗效及不良反应情况。

结果: 经过18-36 mo的临床随访, 对照组共有22.86%的患者发生出血, 观察组为20.0%, 2组差异无统计学意义($P > 0.05$)。总死亡率与出血相关死亡率, 对照组为22.86%、11.43%, 观察组为17.14%、8.57%, 两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组有20.0%的患者出现不良反应, 明显低于对照组的51.43%, 两组差异有统

■同行评议者

竺亚斌, 研究员, 宁波大学医学院人体解剖与组织胚胎学系; 张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

计学意义($P<0.05$).

结论: EVL与普萘洛尔在治疗肝硬化EV患者中均有良好的疗效,可以有效预防出血.但普萘洛尔不良反应较EVL少,且未进行侵入性操作,因此值得临床应用.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管静脉曲张套扎术; 普萘洛尔; 肝硬化食管静脉曲张; 出血; 不良反应

核心提示: 本文对食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)与普萘洛尔预防肝硬化食管静脉曲张(esophageal varices, EV)出血的疗效进行了临床研究. 首先对2组患者进行了为期18-36 mo的临床随访. 随访结果显示, 患者在接受早期治疗后, 2组患者EV出血的发生率较为相近. 其中观察组为22.86%, 对照组为20.0%, 2组差异无统计学意义. 该结果表明, 就预防EV出血的作用而言, 两种治疗方案均无明显的优越性, 约1/5的肝硬化EV患者会发生破裂出血. 出血部位方面, 2组患者均以食道多见.

芦永福, 郜茜, 王韵, 蒋汉梅. 食管静脉曲张套扎术和口服普萘洛尔治疗肝硬化食管静脉曲张的疗效对比. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2694-2697 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2694.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2694>

0 引言

食管静脉曲张(esophageal varices, EV)属于肝硬化患者晚期较常遇到的一类并发症, 临床发病率约为40%^[1]. 出血是本病最主要的临床表现, 而且往往存在反复性^[2]. 本病的临床致死率较高, 为25%-45%^[3]. 因此, 如何有效治疗本病, 预防出血就成为目前研究的热点. 内镜下食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)是目前常用的物理预防止血办法, 但是一些患者由于多次进行EVL, 造成门静脉压力上升, 复发静脉曲张的概率增加^[4]. 普萘洛尔是近年来研究较多的一种非选择性 β 受体阻滞剂, 研究证明^[5], 普萘洛尔能够有效降低门静脉压力, 从而减少出血的风险. 作者在临床治疗肝硬化EV通过采用EVL与普萘洛尔之间的疗效对比, 阐述2种治疗方法在本病治疗中各自的优缺点, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入患者140例, 均为本院

2008-01/2010-01诊断为肝硬化EV的患者. 本研究的纳入及排除标准如下: 纳入标准: (1)患者门静脉高压为肝硬化造成; (2)根据中华消化内镜学会2000年通过的食管胃底静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案, 内镜下EV程度分级达到中度或重度; (3)既往无EV出血或其他上消化道出血病史; (4)既往未服用 β 受体阻滞剂. 排除标准: (1)年龄 <18 岁, 或 >75 岁; (2)有严重高血压、糖尿病、冠心病患者; (3)严重肝肾功能不全者; (4)既往接受过胃镜手术者. 其中对照组70例, 治疗为EVL, 男44例, 女26例, 年龄40-73岁, 平均年龄 55.8 ± 11.0 岁; 其中慢性乙肝患者24例, 慢性丙肝患者16例, 酒精性肝病患者18例, 其他肝病12例. 观察组70例, 治疗为普萘洛尔口服, 男42例, 女28例, 年龄42-74岁, 平均年龄 56.2 ± 11.2 岁; 其中慢性乙型肝炎患者26例, 慢性丙型肝炎患者14例, 酒精性肝病患者18例, 其他肝病12例. 对两组患者性别、年龄、肝硬化病原学等资料进行统计学分析, 发现差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: (1)EVL: 每2 wk对患者进行1次EVL治疗, 治疗直至患者EV情况完全消失为止, 一般每次套扎点数为6-18个. EV消失后, 每3 mo对患者进行1次复查, 看有无存在复发情况. 若有复发, 则继续进行EVL治疗, 直至静脉曲张情况完全消失为止; (2)普萘洛尔: 普萘洛尔的初始剂量为30 mg/d, 根据患者的情况逐步加大口服剂量, 但最大剂量不应超过160 mg/L. 治疗期间, 对患者的心率进行监测. 若患者心率较治疗前下降25%, 且心率 <60 次/min或收缩压 <90 mmHg时, 需要进行剂量的调整.

1.2.2 观察治疗: (1)所有患者3 mo/次临床随访, 对患者治疗后出现出血例数、出血部位、死亡例数、出血相关死亡例数、门脉高压胃病发生等情况进行统计; (2)对所有患者治疗期间不良反应期间进行记录.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本 t 检验, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 一般治疗情况 对照组随访时间20-33 mo, EVL

■研发前沿
如何有效治疗食管静脉曲张, 预防出血就成为目前研究的热点.

■相关报道
普萘洛尔是近年来研究较多的一种非选择性 β 受体阻滞剂, 研究证明, 普萘洛尔能够有效降低门静脉压力, 从而减少出血的风险.

■应用要点

EVL与普萘洛尔在预防肝硬化EV出血, 均有良好的干预疗效, 可以有效预防出血。但普萘洛尔不良反应较EVL少, 且未进行侵入性操作, 因此值得临床应用。

表 1 2组患者治疗后出血及死亡率等相关分析 ($n = 70, n(\%)$)

分组	出血率	出血部位		总死亡例	与出血相关死亡例	门脉高压胃病发生率
		食道	胃底			
对照组	16(22.86)	12(17.14)	4(5.71)	16(22.86)	8(11.43)	10(14.29)
观察组	14(20.0)	12(17.14)	2(2.86)	12(17.14)	6(8.57)	8(11.43)

表 2 2组患者治疗期间副反应情况比较 (n)

分组	不良反应	n	比例(%)	总不良反应率(%)
对照组	胸骨后疼痛	18	25.71	51.43
	吞咽困难	6	8.57	
	低热	12	17.14	
观察组	心动过缓	6	8.57	20.0 ^a
	头晕	8	11.43	

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

套扎平均次数为2.3次 \pm 1.4次, 每次平均套扎点数为14.4个 \pm 6.3个。观察组随访时间18-36 mo, 平均普萘洛尔口服剂量为78.4 mg/d \pm 23.7 mg/d。

2.2 2组患者治疗后出血及死亡率等相关分析 在总共18-36个随访中, 对照组22.86%的患者出现出血, 观察组为20.0%, 两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。总死亡率与出血相关死亡率, 对照组为22.86%、11.43%, 观察组为17.14%、8.57%, 两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。对照组门脉高压胃病发生率为14.29%, 观察组为11.43%, 两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外, 两组患者出血部位比较, 差异亦无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

2.3 2组患者治疗期间不良反应情况比较 对照组治疗期间不良反应总发生率为51.43%, 主要以心动过缓、头晕等多见。观察组治疗期间不良反应总发生率为20.0%, 主要以胸骨后疼痛、吞咽困难、低热等多见。2组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2)。

3 讨论

EV是晚期肝硬化患者较为多见的一类并发症, 出血是本病的首要致死因素。因此, 早期进行干预, 预防EV出血就成为本病主要的治疗目标。当前, 本病治疗方法主要分为手术治疗、内镜治疗以及药物治疗3类^[6]。相比外科手术与内镜治疗, 药物治疗由于不会造成侵入性操作, 因此对患者的影响较小。以往的手术经验认为^[7,8], 内镜具有定位准的优点, 可以对曲张静脉直接进行

套扎, 从而达到预防出血的目的。但是, 随着研究的不断深入, 临床发现患者进行内镜下EVL后, 发生出血的例数仍较高。此外, 关于EVL的安全性, 目前国内外存在较大的争议^[9,10]。一些报道认为^[11], EVL后, 患者各类相关并发症出现较多。普萘洛尔属于非选择性 β 受体阻滞剂, 是当前临床上预防肝硬化EV出血的重要药物。研究表明^[12], 普萘洛尔能够降低服药者的心率, 从而起到降低心输出量与收缩内脏血管的作用, 最终降低内脏循环血容量, 减少肝动脉与门静脉的血流灌注来降低门静脉压力。EVL的作用机制在于结扎、闭塞静脉曲张的血管, 并使其发生缺血性坏死, 并自行脱落。EVL的操作对患者的创伤较小, 且对患者肝肾功能不产生影响。但是, 由于EVL操作只对患者食管表面的曲张静脉进行结扎、闭塞, 而对食管周围黏膜下的侧支循环静脉无直接干预作用^[13]。因此, EVL后患者静脉曲张复发率较高, 甚至会出现未出血的曲张静脉破裂。该现象产生的主要原因在于门脉压力无法被降低^[14,15]。

本研究中, 对EVL与普萘洛尔预防肝硬化EV出血的疗效进行了临床研究。首先, 我们对2组患者进行了为期18-36 mo的临床随访。随访结果显示, 患者在接受早期治疗后, 2组患者EV出血的发生率较为相近。其中观察组为22.86%, 对照组为20.0%, 2组差异无统计学意义。该结果表明, 就预防EV出血的作用而言, 两种治疗方案均无明显的优越性, 约1/5的肝硬化EV患者会发生破裂出血。出血部位方面, 2组患者均以食道多

见. 随访期间, 观察组患者的死亡率与出血相关治疗死亡率分别为22.86%、11.43%, 该比例在对照组则为17.14%、8.57%. 而门脉高压胃病发生率方面, 观察组为14.29%, 与对照组的11.43%亦较为接近. 上述观察指标, 2组间差异均无统计学意义. 说明在疗效学方面, 2组治疗方案的治疗效果较为接近, 对肝硬化EV患者均有一定的预防出血能力. 在疗效观察的同时, 对2组患者进行了治疗不良反应情况的调查随访. 结果显示, EVL后患者出现不良反应的比例较高, 本研究超过一半(51.43%)的患者发生不同程度的不良反应, 临床主要表现为胸骨后疼痛、低热以及吞咽困难等. 而口服普萘洛尔的患者, 经临床随访, 发现治疗期间存在不良反应的患者比例仅为20.0%(7/35), 临床主要表现为心动过缓、头晕等. 但7例患者不良反应情况均较为轻微, 经过对症处理后, 未出现不良后果. 该结果显示, 虽然EVL与普萘洛尔预防肝硬化EV的作用及效果接近, 但普萘洛尔治疗期间的不良反应明显低于EVL. 这提示 β 受体阻滞剂可以作为预防肝硬化EV出血的主要干预手段. 而对于一些不能耐受 β 受体阻滞剂的患者, 或者静脉曲张情况较重, 需要紧急处理的患者, 仍应该考虑进行内镜下进行EVL.

总之, EVL与普萘洛尔在预防肝硬化EV出血, 均有良好的干预疗效, 可以有效预防出血. 但普萘洛尔不良反应较EVL少, 且未进行侵入性操作, 因此值得临床应用.

4 参考文献

- 1 冯超, 黄飞舟, 聂晚频, 刘浔阳, 任树平. 内镜下套扎术与普萘洛尔预防肝硬化食管曲张静脉首次出血的对照研究. 中南大学学报(医学版) 2012; 37: 513-516
- 2 陈光兰, 徐磊, 陈成龙, 朱雅碧, 汪望月, 黎红光. 内镜下套扎术预防肝硬化食管静脉曲张破裂出血的远期随访观察. 中华消化杂志 2010; 30: 171-173
- 3 何学敏. 肝硬化引发食管静脉曲张出血的治疗方法探讨. 中国医药 2012; 7: 722-723
- 4 黎晓武, 崔进, 陈杨志, 李金强. 食管静脉曲张套扎术加普萘洛尔预防肝硬化食管静脉曲张破裂出血的临床研究. 中国医药导刊 2010; 12: 537, 539
- 5 石胜利, 戴小华, 袁帅, 沈洁. 预防性套扎联合普萘洛尔治疗肝硬化重度食管静脉曲张的临床研究. 中国医师进修杂志 2010; 33: 57-59
- 6 李中. 食管静脉曲张硬化剂治疗对门静脉高压性胃病的影响. 广西医学 2012; 34: 946-947
- 7 邓应江, 敖智容, 秦红, 刘伟. 影响内镜下食管静脉曲张套扎术疗效的危险因素分析. 西南国防医药 2012; 22: 66-1068
- 8 李祺, 孙远杰, 秦国涛, 刘志忠. 食管静脉曲张破裂出血内镜下治疗120例. 中国老年学杂志 2012; 32: 4775-4776
- 9 陈萍. 内镜下食管静脉曲张结扎术治疗食管静脉曲张破裂出血67例分析. 山东医药 2011; 51: 69-70
- 10 朱艳萍, 赵芮, 蒋丹娜. 食管静脉曲张治疗硬化剂的选择及其性能评价. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 2245-2248
- 11 宋仁, 陈伟庆, 何璐, 梅浙川, 吴素华, 何松, 高健, 沈薇. 食管静脉曲张结扎术的疗效及其与肝功能的关系. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 886-889
- 12 王庆治, 张帮杰, 王素娟. 急诊内镜套扎治疗急性食管静脉曲张破裂出血的疗效观察. 郑州大学学报(医学版) 2012; 47: 415-416
- 13 丁世华, 刘俊, 王建平, 张丽萍, 石定. 内镜套扎术联合 β -受体阻滞剂预防肝硬化食管静脉曲张再出血的效果. 实用医学杂志 2010; 26: 1183-1184
- 14 张中琴. β 受体阻滞剂预防肝硬化患者胃食管静脉曲张. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 629-630
- 15 申道君, 李文华. 普萘洛尔预防门脉高压症初次消化道出血的临床研究. 中国基层医药 2009; 16: 2174

■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 对临床医师有很好的参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理

黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英

■背景资料

食管癌是临床中常见疾病, 长期的治疗使得患者生活质量和机体免疫大大降低, 针对性的营养支持和护理能够提高患者术后的生活质量。丙氨酰谷氨酰胺属于癌症患者术后常用的营养药物, 效果比较明显, 治疗中不良反应少。同时, 通过针对性的护理措施实施, 较好的提高临床效果。

黄春珍, 王芳, 许梦玫, 汤琴, 刘丽英, 海口市人民医院 海南省海口市 570202

黄春珍, 主管护师, 主要从事临床护理工作。

作者贡献分布: 此课题设计及研究过程由黄春珍、王芳、许梦玫、汤琴及刘丽英共同完成; 数据分析及论文写作由黄春珍完成; 王芳指导及审阅。

通讯作者: 黄春珍, 主管护师, 570202, 海南省海口市人民大道43号, 海口市人民医院。huangchunzhen_hk@163.com

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery

Chun-Zhen Huang, Fang Wang, Meng-Mei Xu, Qin Tang, Li-Ying Liu

Chun-Zhen Huang, Fang Wang, Meng-Mei Xu, Qin Tang, Li-Ying Liu, Haikou People's Hospital, Haikou 570202, Hainan Province, China

Correspondence to: Chun-Zhen Huang, Chief Nurse, Haikou People's Hospital, 43 Renmin Avenue, Haikou 570202, Hainan Province, China. huangchunzhen_hk@163.com

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal cancer after surgery.

METHODS: Eighty patients with esophageal cancer who underwent surgical treatment at our hospital from January 2010 to December 2011 were randomly and equally divided into either an observation group or a control group. The control group was given conventional treatment, and the treatment group was treated with alanyl-glutamine and received strengthened nursing measures.

RESULTS: Compared with pre-treatment values, serum levels of albumin and prealbumin were significantly reduced one day after treatment in both the observation group and control group (all $P < 0.05$). Serum levels of albumin and prealbumin were significantly higher 8 d after treatment in the observation group than in

the control group (both $P < 0.05$). Compared to preoperative data, nitrogen balance was improved 8 d after the treatment in both groups, and the improvement was more significant in the observation group ($P < 0.05$). The incidence of complications was significantly lower in the observation group than in the control group (2.5% vs 12.5%, $\chi^2 = 7.28$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Alanyl-glutamine shows a good clinical effect in patients with esophageal carcinoma after surgery. Strengthened nursing measures can effectively improve the overall effect.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal carcinoma; Glutamine; Application effect; Nursing

Huang CZ, Wang F, Xu MM, Tang Q, Liu LY. Clinical effect of alanyl-glutamine in patients with esophageal carcinoma after surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2698-2701 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2698.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2698>

摘要

目的: 探讨食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺的临床效果与护理方法。

方法: 将我院2010-01/2011-12收录的80例食管癌术患者随机的分为观察组和对照组, 对照组40例患者术后给予常规治疗, 观察组40例患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗, 并加强针对性的护理。

结果: 观察组和对照组术后治疗1 d后较治疗前的血清白蛋白与前白蛋白有明显的降低, 数据的比较具有明显的差异($P < 0.05$), 统计学有意义; 观察组和对照组治疗8 d的血清白蛋白比较具有明显的差异($P < 0.05$), 有统计学意义。观察组和对照组术后第8天氮平衡较术前有效明显的改善, 且观察组改善效果明显的优于对照组的情况, 组间的数据比较具有明显的差异($P < 0.05$), 有统计学意义。观察组术后并

■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

症发生率为2.5%; 对照组的术后并发症发生率12.5%, 两组的数据比较具有明显的差异($\chi^2 = 7.28, P < 0.05$), 有统计学意义。

结论: 临床中对于食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺具有较好的应用效果, 并在实施过程中加强有效的护理配合, 从而提高整体效果。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: 食管癌; 丙氨酰谷氨酰胺; 应用效果; 护理方法

核心提示: 食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺效果显著, 有效的改善患者负氮平衡状况, 促进机体的恢复。同时, 改善血清白蛋白和前白蛋白的含量, 提高免疫应答能力。整个治疗无不良反应, 治疗安全性高。

黄春珍, 王芳, 许梦孜, 汤琴, 刘丽英. 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌术后的应用与护理. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2698-2701
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2698.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2698>

0 引言

食管癌为常见疾病, 具有较高的发病率, 严重的影响患者的生活质量。临床中常采取手术治疗, 效果比较显著, 但术后的康复一直是临床医师关注的重点, 临床中常常给予患者西药进行缓解症状, 提高生活质量。丙氨酰谷氨酰胺是应用食管癌术后的新型药物, 效果比较明显, 且不良反应也比较少, 针对性强^[1]。本文对海口市人民医院2010-01/2011-12收治的80例食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗的资料 and 护理方法进行分析, 探讨丙氨酰谷氨酰胺的应用效果, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取海口市人民医院2010-01/2011-12收治的80例食管癌手术患者, 并将其随机的分为观察组和对照组, 对照组40例患者, 男21例, 女19例, 年龄56-78岁, 平均年龄66.3岁 \pm 2.3岁。患者根据美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)分期: I期患者10例, II期患者15例, III期患者15例。腹部患者14例、胸部患者12例、颈部患者14例。经左胸切口手术11例, 胸腹联合切口手术20例, 颈部+上腹部切口手术9例。10例患者伴有肺气肿, 12例伴有高血压, 15例伴有支气管炎, 3

例伴有糖尿病。观察组40例患者, 男性0例, 女20例, 年龄57-79岁, 平均年龄65.7岁 \pm 2.7岁。AJCC临床分期: I期患者11例, II期患者15例, III期患者14例。腹部患者15例、胸部患者12例、颈部患者13例。经左胸切口手术12例, 胸腹联合切口手术20例, 颈部+上腹部切口手术8例。11例患者伴有肺气肿, 10例伴有高血压, 15例伴有支气管炎, 4例伴有糖尿病。两组患者的基本资料、临床分期、手术方式和基础性疾病等比较无明显差异($P > 0.05$), 统计学无意义, 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组40例患者在手术后给予全肠外的营养支持、葡萄糖和脂肪补充, 同时, 加强抗感染护理、输液护理和营养护理。给予0.2 g/(kg·d)的氮+104.6 kJ/(kg·d)热量进行治疗^[2]。观察组的40例患者在对照组的治理基础上给予丙氨酰谷氨酰胺治疗, 剂量为1.5-2.0 mL/(kg·d), 连续治疗1 wk。并且加强本组患者术后的护理干预, 具有的操作方法如下: (1)时间配合: 在患者行食管癌术后应合理的控制丙氨酰谷氨酰胺的使用时间, 术后第1天给予丙氨酰谷氨酰胺进行治疗, 并且加强术前禁食和术后的肠胃减压等处理。在使用的过程中应有效地避免感染, 一般丙氨酰谷氨酰胺的使用时间不超过3 wk; (2)药物配置: 护理人员在丙氨酰谷氨酰胺的配合过程中应严格的执行无菌操作技术。另外, 需要详细的了解葡萄糖、氨基酸、脂肪乳和各种维生素以及微量元素与电解质等营养物的配合比例与程序, 确保药物的药性; (3)护理配合: 在患者给予丙氨酰谷氨酰胺治疗前, 可以和配伍的氨基酸或者含有氨基酸的溶液进行混合, 并将其与载体溶液一起静脉输注。同时, 在临床治疗的过程中应加强中心静脉导管的检查, 避免发生移位和脱管以及堵塞与感染等并发症。护理人员应每天进行严格的消毒, 及时的更换敷料, 避免局部感染。同时, 护理人员应告知患者和陪护的人员进行保护好中心静脉导管, 确保输液正常进行。在输液过程中出现的不良反应, 护理人员应及时的给予的处理, 避免病情的恶化^[3]。

1.2.2 并发症护理: 在患者治疗的过程中, 护理人员应密切的观察病情变化情况, 一般在输注的速度过快时, 患者很容易出现寒战和恶心以及呕吐等临床症状, 并及时的给予对症处理。并且在实施的过程中, 有效的预防其他的并发症发生。同时, 在治疗的过程中应加强肝脏功能

■研发前沿

在应用丙氨酰谷氨酰胺的治疗过程中, 重点需要了解丙氨酰谷氨酰胺的配置方法和过程以及各种营养物质的配合比例以及程序, 从而较好的提高配置的质量。整个实施的过程中应加强质量的控制, 这也是临床中医护理人员比较关注的重点问题之一。

■相关报道

临床中对于癌症患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗的报道也比较多, 多数的是应用重症患者治疗中。本文从食管癌患者的角度进行实施丙氨酰谷氨酰胺治疗, 重点阐述了食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺的治疗方法和护理配合要点, 为以后临床的治疗提供参考。

■创新盘点

本文对食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗具有较好的应用效果,能够有效的改善患者负氮平衡状况。这一结果与临床中李蕾等研究一致,认为能够很好的改善负氮平衡。同时,本文通过针对性的护理实施,从而有效的提高白蛋白与前白蛋白的状况,促进机体的快速恢复。

表 1 观察组和对照组治疗前后血清白蛋白与前白蛋白比较 (mean \pm SD, $n = 40$, g/L)

分组	时间	血清白蛋白	前白蛋白
对照组	术前	38.45 \pm 3.24	239.54 \pm 35.64
	术后1 d	33.24 \pm 5.25 ^a	170.33 \pm 41.35 ^a
	术后8 d	34.21 \pm 5.33 ^c	218.55 \pm 38.38 ^c
观察组	术前	39.15 \pm 3.15	240.15 \pm 35.11
	术后1 d	34.66 \pm 5.02 ^a	174.23 \pm 42.64 ^a
	术后8 d	37.56 \pm 5.18	235.72 \pm 39.23

^a $P < 0.05$ vs 同组术前; ^c $P < 0.05$ vs 观察组术后8 d.

表 2 观察组和对照组治疗前后负氮平衡比较 (mean \pm SD, $n = 40$, g/d)

分组	时间	负氮平衡
对照组	术前	-5.23 \pm 2.14
	术后8 d	-4.45 \pm 2.11 ^{ac}
观察组	术前	-5.16 \pm 2.05
	术后8 d	-2.44 \pm 1.46 ^a

^a $P < 0.05$ vs 术前; ^c $P < 0.05$ vs 观察组术后8 d.

的检测,从而避免肾功能不全的情况发生^[4].

1.2.3 观察指标: 主要观察的临床治疗指标主要有: 白蛋白含量、前白蛋白含量、负氮平衡比较。

1.2.4 测定方法: 两组患者均在术前和术后的第2天和第8天进行静脉采血,测定其血清白蛋白和前白蛋白以及24 h尿素氮含量,并且计算氮平衡。即: 氮平衡 = 摄入氮量 - (24 h尿素氮 + 3)。

统计学处理 本次研究的数据资料均采用SPSS19.0的统计学软件进行数据分析,计量资料采取mean \pm SD进行表示,并采取 t 进行检验,计数资料采取 χ^2 进行检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清白蛋白与前白蛋白比较 观察组和对照组术后治疗1 d较治疗前的血清白蛋白与前白蛋白水平有明显的降低,差异有显著统计学意义($P < 0.05$); 观察组和对照组治疗8 d的血清白蛋白比较具有明显的差异($P < 0.05$)(表1)。

2.2 负氮平衡比较 观察组和对照组术后第8天负氮平衡较术前有效明显的改善,且观察组改善效果明显的优于对照组的情况,组间的数据比较具有明显的差异($P < 0.05$)(表2)。

2.3 并发症比较 观察组术后出现切口感染1例,并发症发生率为2.5%;对照组的术后2例切口感

染,2例肺部感染,1例尿道感染,并发症发生率12.5%,两组的数据比较具有显著差异($\chi^2 = 7.28$, $P < 0.05$)。

3 讨论

食管癌是临床中常见疾病之一,临床中常常采取手术治疗,但是术后的康复治疗是人们关注的重点^[5-10]。

丙氨酰谷氨酰胺是白色或者类白色的疏松块状物,在人体内的具体作用如下几点: (1)能够有效的为蛋白质与DNA的合成提供充足的氮源^[11]; (2)能够有效的清除氮代谢废物,并维持其正常的机体生理和代谢功能; (3)有效的调节氮平衡,并有效的维持患者机体平衡^[12,13]。

通过本次的临床研究分析,临床中对于食管癌术后给予丙氨酰谷氨酰胺治疗是可行的,能够有效的纠正患者体内血清白蛋白和前白蛋白的含量,并有效的维持其体内氮平衡。杨孝清等研究也显示,食管贲门癌患者术后应用含丙氨酰-谷氨酰胺肠外营养支持能够有效的改善营养状况,有效的纠正血清白蛋白量^[14,15]。同时,在整个实施的过程中应加强针对性的护理措施,从而更好的提高治疗效果。通过此次的分析,作者认为,在护理的过程中应注意一下几个问题: (1)加强配置前的护理。由于多数的患者处于负氮平衡的状况,应加强饮食的护理,改善患者的负氮平衡状况,提高机体的免疫力,更好的促进伤口的愈合; (2)配置过程中的护理。护理人员应有效的了解配置的过程,并积极的配合医师进行操作,从而更好的提高配置的质量; (3)输注过程的护理。护理人员应有效地掌握输注的方法,并加强观察,并且有效的注意中心静脉导管的情况,避免其发生移位和脱管以及堵塞等情况发生。每天需要进行穿刺部位的消毒,避免感染。

总之,食管癌术后应用丙氨酰谷氨酰胺具有

■应用要点

本文通过对食管癌患者术后应用丙氨酰谷氨酰胺治疗,重点阐述了癌症患者在术后急需给予营养支持,从而提高机体的免疫力。进一步的说明,在给予丙氨酰谷氨酰胺治疗过程中应配合针对性的护理措施实施,从而提高整体的治疗效果。整个治疗效果明显,在临床中的应用前景广泛。

较好的应用效果,并在实施过程中加强有效的护理配合,从而提高整体效果。

4 参考文献

- 周静, 谢立群, 李轩, 陈小义, 陈莉, 郑艳敏, 李飞. 蛋白酶激活受体2激动剂对食管癌EC109细胞侵袭转移的促进作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1313-1319
- 沈晓咏, 吕帆真, 李文. 丙氨酰谷氨酰胺对食管癌患者术后机体免疫及营养代谢的影响. 中国临床医学 2007; 12: 211-212
- 陈超伍, 马洪升. 基质金属蛋白酶在食管癌组织中的表达及与微量元素含量之间的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1995-2000
- 赵劲松, 廖克龙, 杨康, 张伟, 熊刚, 李军, 谭文峰. 丙氨酰谷氨酰胺注射液对食管癌患者术后营养和免疫状况的影响. 中国临床营养杂志 2007; 11: 445-446
- 邓先锋, 黄海燕, 田敏, 吴志林. 急危重症患者应用谷氨酰胺营养支持治疗的观察与护理. 护理学杂志 2009; 11: 241-242
- 李蕾, 邸永梅, 赵霜. 丙氨酰谷氨酰胺双肽在胃肠道术后的应用与护理. 中国现代医药杂志 2009; 21: 677-678
- 魏立, 孙洋, 朱珍. 经鼻肠管早期肠内营养在食管癌术后患者中的应用. 中华现代护理杂志 2012; 18: 4227-4231
- 罗在琼, 郭志祥. 食管癌与贲门癌患者术后早期应用肠内营养的效果及护理. 中华现代护理杂志 2011; 17: 556-558
- 李荣, 张秀英. 老年食管癌术后患者早期肠内营养的观察与护理. 医学理论与实践 2012; 25: 2427-2428
- Gu XH, Hao Y, Wang XL. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress. *Poult Sci* 2012; 91: 790-799 [PMID: 22399716]
- 朱月华, 丁玉琴, 张文祥, 王桂云, 顾小莉. 食管癌95例术后早期肠内营养的护理. 中国误诊学杂志 2011; 11: 5190-5190
- Jukić T, Rojc B, Boben-Bardutzky D, Hafner M, Ihan A. The use of a food supplementation with D-phenylalanine, L-glutamine and L-5-hydroxytryptophan in the alleviation of alcohol withdrawal symptoms. *Coll Antropol* 2011; 35: 1225-1230 [PMID: 22397264]
- 莫旻龙, 何家贤, 石崛, 李炫杜, 陈丽华, 林滢. 丙氨酰谷氨酰胺在食管癌患者术后的应用. 中国医师进修杂志 2012; 35: 44-45
- 吴蔚, 何萍, 王海东, 杨康, 廖克龙. 联合应用谷氨酰胺和生长激素对食管癌患者术后蛋白代谢和免疫状况的影响. 中国肿瘤临床与康复 2007; 14: 380-383
- Vander Heiden MG, Lunt SY, Dayton TL, Fiske BP, Israelsen WJ, Mattaini KR, Vokes NI, Stephanopoulos G, Cantley LC, Metallo CM, Locasale JW. Metabolic pathway alterations that support cell proliferation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2011; 76: 325-334 [PMID: 22262476 DOI: 10.1101/sqb.2012.76.010900]

■同行评价

本文研究的主题新颖,效果也比较显著,适应性价值强。

编辑 田滢 电编 闫晋利



胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响

黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 田德安

■背景资料

胆结石在我国属常见疾病, 其治疗目前仍以手术切除胆囊为主。胆囊切除术后患者常出现胆汁反流性胃炎的临床表现, 而胆汁反流对于胃黏膜的病理学影响目前报道很少。本研究对胆囊结石患者胆囊切除术前胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察提示: 胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关, 为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗, 以及胃癌前病变的预防及诊断提供了一定的理论依据。

黎永军, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 石河子大学医学院第一附属医院 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

胡咏泉, 新疆建设兵团九师医院消化内科 新疆维吾尔自治区额敏县 834601

田德安, 华中科技大学武汉同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

黎永军, 副主任医师, 主要从事消化内科及内镜医疗、教学及科研工作。

作者贡献分布: 本研究设计由黎永军完成; 病理切片阅片由陈云昭完成; 胡咏泉、陈卫刚、李睿及田德安共同参与本研究。

通讯作者: 田德安, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学武汉同济医院消化内科。deantiancn@163.com

收稿日期: 2013-06-07 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-09-18

Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells

Yong-Jun Li, Yong-Quan Hu, Wei-Gang Chen, Rui Li, Yun-Zhao Chen, De-An Tian

Yong-Jun Li, Wei-Gang Chen, Rui Li, Yun-Zhao Chen, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yong-Quan Hu, Department of Gastroenterology, Jiushi Hospital, Yuminxian 948002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

De-An Tian, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: De-An Tian, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefangda Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. deantiancn@163.com

Received: 2013-06-07 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of bile reflux after cholecystectomy on the histology of gastric antral mucosal cells.

METHODS: Forty patients with gallstones diagnosed by type-B ultrasound and CT underwent endoscopy before and three months after the excision of the gallbladder to observe the degree of bile reflux in the pyloric opening and the extent of duodenal bile retention. Biopsy forceps were used to take antral gastric mucosal tissues

for histological examination. The patients then underwent re-examinations annually for three years to observe the degree of bile reflux and histological changes of gastric mucosal cells.

RESULTS: The percentage of patients without bile reflux in the pyloric opening was reduced from 65% before cholecystectomy to 7.5% after cholecystectomy, and the corresponding percentages were 27.5% to 15% for patients with a small amount of bile reflux, 7.5% to 55% for those with a medium amount of bile reflux, and 0% to 22.5% for those with a large amount of bile reflux. The percentage of patients with a small amount of bile retention was reduced from 80% before cholecystectomy to 10% after cholecystectomy, and the corresponding percentages were 20% to 67.5% for patients with a medium amount of bile retention, and 0% to 22.5% for those with a large amount of bile retention. Gastric mucosal cells showed significant histological changes after cholecystectomy. The percentage of patients with intestinal metaplasia increased from preoperative 7.5% to postoperative 62.5%, and the percentage of patients with atypia-hyperplasia increased from preoperative 5% to 45%.

CONCLUSION: Bile reflux increases significantly after cholecystectomy, which can cause bile reflux gastritis and gradually lead to intestinal metaplasia and atypia-hyperplasia.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Cholecystectomy; Bile reflux gastritis; Intestinal metaplasia; Atypia hyperplasia

Li YJ, Hu YQ, Chen WG, Li R, Chen YZ, Tian DA. Bile reflux after cholecystectomy affects histology of gastric antral epithelial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2702-2707 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2702.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2702>

摘要

目的: 提高对胆囊切除后引起胆汁反流对胃黏膜细胞影响因素的认识。

■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科; 潘阳林, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

方法: 对40例经B超、CT检查确诊为胆囊结石行胆囊切除的患者, 应用胃镜对每一例患者胆囊切除前及切除后3 mo进行检查, 观察幽门口胆汁反流程度及十二指肠球部胆汁存留程度, 同时使用活检钳在胃窦部钳取胃黏膜做细胞组织学检查; 此后, 每年进行1次复查, 连续3年, 观察胆汁反流程度及胃黏膜细胞组织病理学变化。

结果: (1)胆囊切除前、后胃幽门口无胆汁反流患者的比例由65%降低至7.5%, 减少57.5%; 有少量反流的患者由术前的27.5%降低至15%, 减少12.5%; 有中量反流的患者由术前的7.5%增加至55%, 增加47.5%; 在术前无大量胆汁反流现象的患者, 术后出现了占比例22.5%的大量胆汁反流现象的患者, 增加率为100%; (2)十二指肠球部胆汁存留程度在胆囊切除前后比例发生显著变化: 有少量胆汁存留的患者由术前的80%降低至10%, 减少70%; 有中量存留的患者由术前的20%增加至67.5%, 增加57.5%; 术前无胆汁大量存留的患者, 出现了22.5%比例的胆汁存留现象的患者, 增加率为100%; (3)胃窦黏膜细胞在胆囊切除前、后组织病理学发生明显变化: 胃窦黏膜细胞发生肠化生的患者由胆囊切除前的7.5%增加至胆囊切除后的62.5%, 增加率45%; 不典型增生由胆囊切除前的5%增加至45%, 增加率40%。

结论: 胆囊切除后, 胆汁反流明显增加, 引起胆汁反流性胃炎, 逐渐导致胃黏膜细胞发生肠上皮化生、不典型增生改变等胃黏膜多阶段病变发生及发展。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆囊切除; 胆汁反流胃炎; 肠化生; 不典型增生

核心提示: 本文对经B超、CT检查确诊为胆囊结石行胆囊切除的患者, 应用胃镜对每一例患者胆囊切除前及切除后进行检查, 观察幽门口胆汁反流程度及十二指肠球部胆汁存留程度, 同时使用活检钳在胃窦部钳取胃黏膜做细胞组织学检查, 观察胆汁反流程度及胃黏膜细胞组织病理学变化。提高对胆囊切除后引起胆汁反流对胃黏膜细胞影响因素的认识。

黎永军, 胡咏泉, 陈卫刚, 李睿, 陈云昭, 田德安. 胆囊切除后胆汁反流对胃窦黏膜上皮细胞病理学影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2702-2707 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2702.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2702>

0 引言

胆囊结石是临床上常见疾病, 其发生率约占我国总人口的7%, 并有逐步增高趋势^[1]. 胆囊结石的治疗目前仍以手术切除胆囊为主, 但胆囊切除术后多数患者出现上腹胀满不适、烧心、口苦、恶心、呕吐等为特征的临床症候群, 又称胆汁反流性胃炎综合征^[2]. 并不是胃镜观察下胃底黏液池内存留有胆汁就可以诊断胆汁反流性胃炎(bile reflux gastritis, BRG), 胆汁反流是BRG的先决条件, 必须伴有胃黏膜损害及病理诊断^[3]. BRG的胃镜诊断标准为: 胃镜见黏液池呈黄色或黄绿色胆汁样, 胃黏膜上可见胆汁瘀斑、黏膜充血、水肿、质脆或糜烂, 呈牛肉红色. BRG主要病理学改变为: 黏膜下层水肿, 黏膜层血管扩张充血, 炎性细胞浸润^[4]. 为探讨胆囊摘除术后胆汁反流程度及其对于胃窦部黏膜病理学的影响, 本研究对40例经B超、CT检查确诊为胆囊结石的患者, 在胆囊切除术前、后行胃镜检查, 观察患者幽门及十二指肠球部胆汁反流量的变化及胆汁反流对胃窦部黏膜组织病理学的改变进行分析, 为进一步探索胆汁反流是否会增加胃黏膜病变提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入标准: 收集2003-03/2009-09在我院就诊, 并经B超、CT检查确诊为胆囊结石并行胆囊切除手术患者40例, 年龄32-65岁, 平均年龄43.3岁. 40例患者均具有完整病历资料, 其中结石单发者11例, 直径0.7-3.0 cm; 多发者16例, 胆囊内有结石2-5枚不等, 直径0.4-2.0 cm; 泥沙充满型13例. 排除标准: 40例患者胆囊切除术前胃镜下钳取胃窦黏膜病理学检查均无肠化生/不典型增生且行幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)检测阴性。

1.2 方法

1.2.1 组织检查: 患者经B超、CT检查确诊为胆囊结石, 采用胃镜检查, 插入胃内后静置1 min, 观察胃内情况符合BRG的胃镜诊断标准的, 记录幽门口胆汁反流情况, 十二指肠球部胆汁存留程度, 同时用活检钳钳取胃窦部(距幽门5 cm范围)黏膜做细胞组织学检查^[5]. 术后3 mo, 由同一胃镜操作医师进行胃镜检查, 同时钳取胃窦部黏膜做组织细胞学检查, 检查结果与前1次结果作对比; 之后连续3年, 每年进行1次胃镜检查及黏膜细胞组织学检查, 做好记录, 进行对比观察。

■ 研发前沿

胃黏膜上皮细胞肠化生及不典型增生属胃癌前病变, 胃癌是我国高发的恶性肿瘤. 胃癌根治的关键在于早期诊断, 而目前我国胃癌的早期诊断率明显低于发达国家. 胃黏膜上皮细胞重度不典型增生已成为早期胃癌最主要的存在形式, 如何发现及诊断重度不典型增生已逐渐成为早期胃癌诊断的热点及难点。

■相关报道

胆囊切除术后多数患者出现以上腹胀满不适、烧心、口苦、恶心、呕吐等为特征的胆汁反流性胃炎综合征,以及幽门口胆汁反流与十二指肠球部胆汁存留状况密切相关,均有相关报道。而胆汁反流对于胃黏膜的病理学影响目前报道很少。

表 1 40例胆结石患者胆囊切除前后幽门口胆汁反流变化 $n(\%)$

	无胆汁反流	少量胆汁反流	中量胆汁反流	大量胆汁反流
胆囊切除前	26(65)	11(27.5)	3(7.5)	—
切除后3 mo	8(20)	17(42.5)	12(30)	3(7.5)
切除后1年	4(10)	10(25)	19(47.5)	7(17.5)
切除后2年	3(7.5)	8(20)	20(50)	9(22.5)
切除后3年	3(7.5)	6(15)	22(55)	9(22.5)
变化率(%)	-57.5	-12.5	+47.5	+100

表 2 40例胆结石患者胆囊切除前、后十二指肠球部胆汁存留变化 $n(\%)$

	少量胆汁存留	中量胆汁存留	大量胆汁存留
胆囊切除前	32(80)	8(20)	—
胆囊切除后3 mo	15(37.5)	20(50)	5(12.5)
胆囊切除后1年	7(17.5)	25(62.5)	8(20)
胆囊切除后2年	5(12.5)	2(65)	9(22.5)
胆囊切除后3年	4(10)	27(67.5)	9(22.5)
变化率(%)	-70	+47.5	+100

1.2.2 观察指标: (1)观察胆囊切除前、后不同时段幽门口胆汁反流量; (2)观察胆囊切除前、后不同时段十二指肠球部胆汁存留量; (3)观察胃窦部黏膜在胆囊切除前、后不同时段肠化生及不典型增生发生率。

1.2.3 判定指标: 幽门口胆汁反流量: 少量-胆汁在每次幽门口关闭时反流在幽门口附近; 中量-胆汁反流至胃窦部; 大量-胆汁反流至胃体部。十二指肠球部胆汁存留量: 少量-球部存在黄色胆汁泡沫; 中量-球部见较多的胆汁泡沫, 并有少量液体状胆汁; 大量-有较多的黄色液体状胆汁存留在球部^[6]。胃窦黏膜细胞组织学改变按病理学诊断标准判定, 将肠化生分为不完全性和完全性; 不典型增生分为轻度、中度及重度三种进行分析研究^[7]。胆汁反流少量、中量、大量符合有关文献根据黏液湖黄染程度及有无胆汁反流、黏膜糜烂程度将胆汁反流性胃炎划分的三级标准^[8]。

统计学处理 应用SPSS12.0统计软件包对资料进行处理, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 幽门口的胆汁反流结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 幽门口的胆汁反流结果: 胆囊切除3 mo后幽门口胆汁中-大量反流增多, 胆囊切除后1、2、3年胆汁中量反流比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)。胆囊切除

后2、3年胆汁大量反流比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)(表1)。

2.2 十二指肠球部的胆汁存留结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 十二指肠球部的胆汁存留结果: 胆囊切除3 mo后十二指肠球部胆汁中-大量存留增多, 胆囊切除后1、2、3年胆汁中量存留比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)。胆囊切除后2、3年胆汁大量存留比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

2.3 肠化生和不典型增生的结果 在40例胆结石患者中, 胆囊切除前、后, 肠化生和不典型增生的结果: 胆囊切除后1、2、3年肠化生及不典型增生比率较术前明显增多, 有统计学意义($P<0.05$, 表3)。

2.4 幽门口胆汁反流与胃窦黏膜肠化生、不典型增生的关系 幽门口胆汁反流与胃窦黏膜肠化生、不典型增生呈正相关(图1, 2)

2.5 病理学检查 胃窦部黏膜肠化生及不典型增生病理学变化如图3所示。

3 讨论

已有研究表明, 胆囊具有贮存、浓缩、排放胆汁, 调节胆道压力等作用^[9]。当人体进食时, 胆囊开始收缩并排出胆汁进入十二指肠帮助消化食物中脂质成分。节律性的胆囊收缩使十二指肠球部内胆汁的排量较为恒定, 球部的压力亦适中^[10]。而当胆囊切除后, 胆囊的调节功

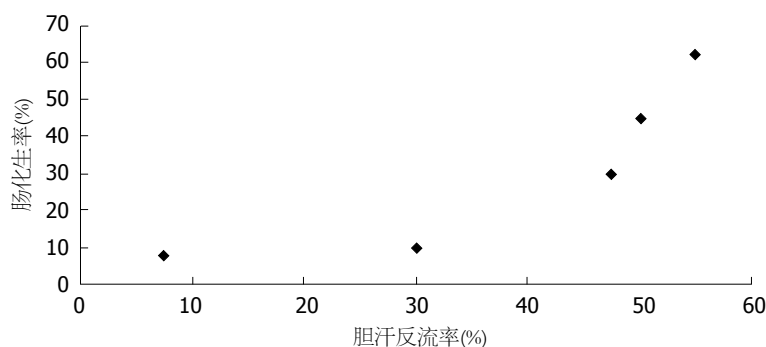


图 1 胆汁反流与胃窦黏膜肠化生呈正相关.

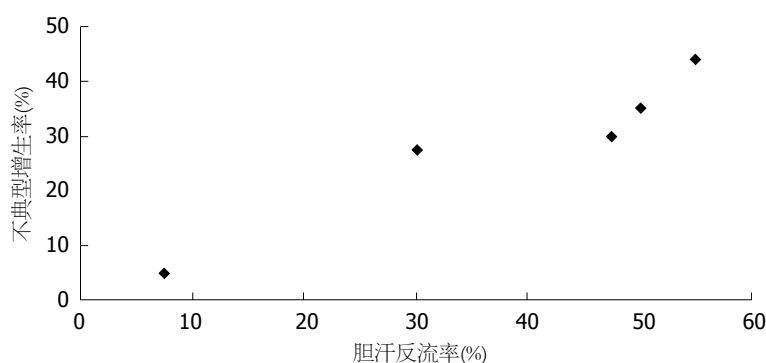


图 2 胆汁反流与胃窦黏膜不典型增生呈正相关.

■ 创新盘点

本研究对胆囊结石患者胆囊切除术后胆汁反流量及十二指肠胆汁存留量进行胃镜下观察记录, 结合组织活检观察胃窦黏膜病理学变化, 定量分析胆汁反流与胃黏膜病理学改变的关系鲜见类似报道.

表 3 40例胆结石患者胆囊切除前、后胃窦黏膜细胞组织学变化 $n(\%)$

	肠化生		不典型增生		
	完全性	不完全性	轻度	中度	重度
胆囊切除前	3(7.5)	—	2(5)	—	—
切除后3 mo	4(10)	—	3(7.5)	—	—
切除后1年	11(27.5)	1(2.5)	6(15)	2(5)	—
切除后2年	16(40)	2(5)	10(25)	3(7.5)	1(2.5)
切除后3年	20(50)	5(12.5)	11(27.5)	5(12.5)	2(5)
变化率(%)	+42.5	+100	+22.5	+100	+100

能丧失, 肝脏合成胆汁排入十二指肠由间歇性和进餐相关的方式变成持续排出, 为胆汁反流提供了条件^[11]; 胆囊切除术后血清胃泌素、胆囊收缩素、YY肽等胃肠道激素水平升高, 可直接影响胃-幽门-十二指肠协同运动, 十二指肠球腔内压力增高, 十二指肠液经幽门反流入胃成为可能^[12]. 本研究表明: 胆囊切除前、后胃幽门口中量反流的患者由术前的7.5%增加至术后55%($P<0.05$), 术后大量胆汁反流患者比例由术前无增加至22.5%($P<0.05$). 十二指肠球部有中量胆汁存留的患者由术前的20%增加至67.5%($P<0.05$), 术前无胆汁大量存留的患者, 术后出现22.5%比例($P<0.05$). 说明幽门口胆汁反流程度与十二指肠球部胆汁存留状况密切相

关, 这与以往研究相符合^[13]. 造成十二指肠球部胆汁存留量增多的机制可能是胆囊切除手术过程中会造成胆总管不同程度的黏连, 相邻的十二指肠发生结构及形态的改变, 出现十二指肠扭曲和部分梗阻, 致使十二指肠球部胆汁存留逐渐增加, 十二指肠球内的压力也不断增加^[14]. 与此同时, 十二指肠分泌的胰泌素、胆囊收缩素和胃窦分泌的胃泌素之间平衡失调导致幽门括约肌肌力下降, 而造成幽门松弛, 幽门括约肌的闸门作用消失, 为胆汁反流打开了渠道, 形成十二指肠液(主要成分为胆汁)反流进入胃幽门口.

本研究显示: 胆囊切除术后幽门口胆汁反流量与胃窦黏膜肠化生及不典型增生均呈正

■应用要点

本文通过对胆囊结石患者胆囊切除术前、后胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察对比提示:胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关,为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗,以及胃癌前病变的预防提供了一定的理论依据。

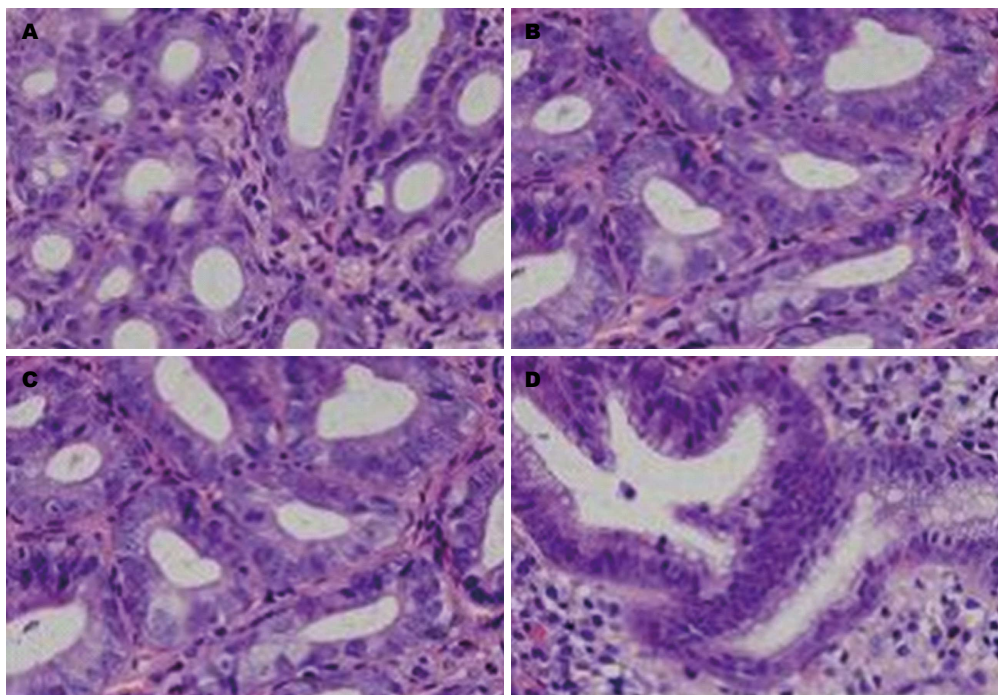


图3 胃窦部黏膜肠化生及不典型增生病理学图($\times 400$)。A: 肠上皮化生; B: 轻度不典型增生; C: 中度不典型增生; D: 重度不典型增生。

相关,且随着时间的延长胃窦黏膜肠化生及不典型增生率逐渐增加。其原因可能为胆汁中含有大量胆酸、肠液、胰液使胃黏液屏障受损,胆汁酸渗透、氢离子弥散、胰酶消化等因素影响到胃黏膜上皮细胞的能量代谢,在长期有害物质作用下产生细胞坏死、腺体萎缩、肠化生等一系列改变。胃黏膜有很强的再生能力,坏死的胃黏膜细胞在被再生细胞替代过程中由于胆汁影响细胞的能量代谢,再生细胞出现细胞核异常分裂,细胞排列结构紊乱,最终导致胃黏膜的不典型增生。重度不典型增生为癌前病变,可能导致胃癌的发生。胆汁反流所导致的胃黏膜的肠化生及不典型增生应引起医务工作者的高度重视。

总之,本研究通过对胆囊结石患者胆囊切除术前、后胆汁反流程度及胃窦黏膜病理学变化的观察对比提示:胆囊切除术后幽门口胆汁反流率、胃窦黏膜肠上皮化生率、不典型增生率均明显升高。胆汁反流与肠上皮化生及不典型增生的发生密切相关,为临床工作中针对胆汁反流性胃炎的治疗,以及胃癌前病变的预防提供了一定的理论依据。针对胆汁反流所导致的胃黏膜的损害,治疗上应该选用胆酸络合剂、促胃动力剂、胃黏膜保护剂、抑酸剂治疗,可起到缓解临床症状,降低癌前病变发生发展的作用。

4 参考文献

- 1 范一宏, 吕宾, 黄斌, 杜卫东, 孟立娜, 项柏康. 胆囊切除术前胃电图、血清胃激素、十二指肠胃反流的变化. 中华消化杂志 2009; 22: 373-374
- 2 刘明东, 徐肇敏. 胆汁反流性胃炎的病因探讨. 中华消化内镜杂志 2008; 20: 243-246
- 3 侯玲, 时吉庆, 曹留建, 夏明银, 罗伟, 秦红军, 熊荣碧. 胆囊切除术后胆汁反流性胃炎分析. 中国内镜杂志 2003; 9: 77-78
- 4 邱玉瑾, 彭淑英, 毛福祯, 单晓宇. 水负荷试验联合B超在评价胆汁反流性胃炎中的价值. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 727-728
- 5 魏艳翎, 毛云高, 吕淑英. 胃镜下胆汁反流性胃炎的资料分析. 吉林医学 2008; 29: 1382-1383
- 6 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胃炎的内镜分型分级标准及治疗的试行意见. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 77-78
- 7 田峰. 胆汁反流与胃黏膜肠化生以及CDX2表达的关系. 山东医学高等专科学校报 2009; 31: 411-413
- 8 赵少宁. 胃炎饮对胆汁反流性胃炎模型大鼠胃黏膜自由基代谢和炎症细胞因子的影响. 河北医科大学学报 2008; 2: 433-435
- 9 Dixon MF, Mapstone NP, Neville PM, Moayyedi P, Axon AT. Bile reflux gastritis and intestinal metaplasia at the cardia. *Gut* 2002; 51: 351-355 [PMID: 12171955 DOI: 10.1136/gut.51.3.351]
- 10 Dowall JE, Willis P, Prescott R, Lamonby S, Lynch DA. Cell proliferation in type C gastritis affecting the intact stomach. *J Clin Pathol* 2000; 53: 784-787 [PMID: 11064674 DOI: 10.1136/jcp.53.10.784]
- 11 Azuma H, Ehata S, Miyazaki H, Watabe T, Maruyama O, Imamura T, Sakamoto T, Kiyama S, Kiyama Y, Ubai T, Inamoto T, Takahara S, Itoh Y, Otsuki Y, Katsuoka Y, Miyazono K, Horie S. Effect of Smad7 expression on metastasis of mouse mammary carcinoma JygMC(A) cells. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1734-1746 [PMID: 16333029 DOI: 10.1093/jnci/dji399]

- 12 Frank M, Byers and Paul H, Jordan R. Effect of bile upon Gastric mucosa. *Experimental Biology and Medicine* 2010; 110: 864-866
- 13 Erbil Y, Türkoglu U, Barbaros U, Balik E, Olgac V, Kaya H, Cimşit B. Oxidative damage in an experimentally induced gastric and gastroduodenal reflux model. *Surg Innov* 2005; 12: 219-225 [PMID: 16224642 DOI: 10.1177/155335060501200306]
- 14 Lauwers GY. Gastritis: beyond *Helicobacter pylori*. *Int J Surg Pathol* 2010; 18: 28S-32S [PMID: 20484257 DOI: 10.1177/1066896910366462]

■同行评价

本文研究目的明确, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价

赵振飞, 高鸿亮, 姚 萍

■背景资料

胆汁反流性胃炎是消化系统常见病、多发病,近年来其检出率呈逐年上升趋势,且由于其病因较多、影响因素复杂,增加了治疗难度,流行病学调查发现其与胃癌呈正相关,故引起越来越多的重视,现传统治疗方案效果不佳且无统一标准,病情易反复,因此探索有效的治疗胆汁反流性胃炎的方案具有重要的临床意义。

赵振飞, 高鸿亮, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

赵振飞, 硕士, 主要从事胆汁反流性胃炎临床治疗方面的研究。
作者贡献分布: 此课题由姚萍设计; 研究过程由姚萍、赵振飞及高鸿亮操作完成; 数据分析由赵振飞与高鸿亮完成; 论文写作与修改由赵振飞、高鸿亮及姚萍完成。

通讯作者: 姚萍, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化内科。

pingyaozh@sina.com

电话: 0991-4362608

收稿日期: 2013-06-13 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review

Zhen-Fei Zhao, Hong-Liang Gao, Ping Yao

Zhen-Fei Zhao, Hong-Liang Gao, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2013-06-13 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To systematically evaluate the efficacy of ursodeoxycholic acid (UDCA) in the treatment of bile reflux gastritis.

METHODS: We searched PubMed, Cochrane Library, Chinese Academic Journal (CJFD), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), Chinese Journal Full-Text Database (CNKI), Wanfang database, and VIP database (until December 2012) to collect randomized controlled trials (RCTs) that evaluated the efficacy of UDCA in the treatment of bile reflux gastritis. Other relevant journals were also searched manually. Literature screening, quality assessment and data extraction were conducted by two reviewers according to inclusion and exclusion criteria. Meta-analyses were conducted using RevMan 5.0.

RESULTS: A total of 17 RCTs involving 1365

patients were identified. According to the results of meta-analyses, trial groups was better than control groups in terms of overall efficacy (OR = 4.16, 95% CI: 2.68-6.46, $P < 0.00001$), rate of clinical symptom remission (OR = 4.99, 95% CI: 2.71-9.16, $P < 0.00001$) and cure rate (OR = 1.92, 95% CI: 1.24-2.99, $P = 0.004$). In terms of improvement of mucosal inflammation revealed by gastroscopy, the UDCA + PPI + prokinetic drug group was better than the control group (OR = 4.45, 95% CI: 2.04-9.69, $P = 0.0002$), but the groups of UDCA + prokinetic drug + mucosal protective drug ($P = 0.13$) and UDCA + prokinetic drug (OR = 2.34, 95% CI: 0.78-6.98, $P = 0.13$) showed no significant difference compared to the control group. Six RCTs reported adverse effects and the UDCA group did not report adverse events.

CONCLUSION: Our results show that UDCA is much more effective in the treatment of bile reflux gastritis than control drugs. However, there is a moderate risk of bias due to methodological quality problems in all 17 included RCTs. More strictly-designed, large-scale, high-quality, multi-centered RCTs are needed to confirm this result.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile reflux gastritis; Ursodeoxycholic acid; Randomized controlled trials; Meta-analysis

Zhao ZF, Gao HL, Yao P. Ursodeoxycholic acid for treatment of bile reflux gastritis: A systematic review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2708-2716
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2708.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2708>

摘要

目的: 系统评价熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗胆汁反流性胃炎的疗效。

方法: 计算机检索Pubmed、Cochrane图书馆、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学

■同行评议者
彭宗根, 研究员,
中国医学科学院
医药生物技术研
究所病毒室

文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、中国知网全文期刊数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、万方数据库、维普数据库(截止2012-12), 并手工检索所有纳入文献的参考文献, 收集熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验(randomized controlled trial, RCT), 由2位评价者按照纳入和排除标准筛选文献、提取资料并行方法学质量评价, 然后采用RevMan5.0软件对数据进行Meta分析。

结果: 共纳入17篇RCT, 共1365例患者, Meta分析结果: UDCA组在综合疗效($OR = 4.16$, $95\%CI: 2.68-6.46$, $P < 0.00001$)、临床症状缓解率($OR = 4.99$, $95\%CI: 2.71-9.16$, $P < 0.00001$)以及治愈率($OR = 1.92$, $95\%CI: 1.24-2.99$, $P = 0.004$)、临床症状积分改变方面均优于对照组, 两组差异均有统计学意义。在胃镜下黏膜组织炎症改善情况方面, UDCA+质子泵抑制剂+促胃动力药物组优于对照组, 两组差异有统计学意义($OR = 4.45$, $95\%CI: 2.04-9.69$, $P = 0.0002$), 但UDCA+促胃动力药物+胃黏膜保护剂组($P = 0.13$)与UDCA+促胃动力药物组($OR = 2.34$, $95\%CI: 0.78-6.98$, $P = 0.13$)尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组, 差异无统计学意义。6篇RCT提及了不良反应, UDCA组未报道不良反应事件。

结论: 现有证据表明, UDCA在治疗胆汁反流性胃炎上有一定疗效, 但由于本文纳入的研究在方法质量学方面还存在不足之处, 可能影响到结果的真实性, 所以需要更多设计严谨、大样本、多中心的随机对照临床试验来进一步证实其疗效。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆汁反流性胃炎; 熊去氧胆酸; 随机对照; Meta分析

核心提示: 近年来越来越多的文献报道使用熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗胆汁反流性胃炎取得较好疗效, 但多为小样本、单中心的研究, 缺乏多中心随机对照试验及循证医学客观证据对其提供有力证明, 本文通过循证方法对纳入随机对照试验(randomized controlled trial)进行系统合并分析, 客观地去评价UDCA治疗胆汁反流性胃炎的疗效, 以期为其临床应用提供客观依据。

赵振飞, 高鸿亮, 姚萍. 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎疗效的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2708-2716

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2708.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2708>

0 引言

胆汁反流性胃炎为消化系统常见病之一, 约占胃炎的12.3%^[1], 其发病机制较复杂, 目前尚不明确, 考虑主要为肠液反流引起多因素协同的作用下导致严重的临床表现及胃黏膜的损伤, Dewar等^[2]观察胃内胆汁酸浓度在胃溃疡患者显著增加, 提示其为引起胃溃疡发生重要因素。某些动物试验研究显示, 胆汁反流还有明显的致癌作用, 其机制尚不明确, 考虑与患者胃内革兰氏阴性需氧菌的过生长有关。Armstrong等^[3]、Sullivan等^[4]研究认为单纯胆汁酸并不引起胃黏膜损害, 需要在胃液参与下才引起胃黏膜炎性损伤, 现临床上治疗主要采用促胃动力及胃黏膜保护剂等治疗, 且存在治疗不彻底、易复发等特点, 仍不是理想的治疗方案。近年来, 有动物研究^[5]表明UDCA可以改变胆汁中胆汁酸的成分, 预防实验性胆汁反流性胃炎的发生。该药是一种可在肝脏中合成的内源性胆汁酸, 可以相对减少亲脂性、去污剂样毒性胆汁酸的生成, 减少胆酸对胃黏膜屏障的破坏, 有效改善患者临床症状及胃镜下黏膜炎性变, 但多数研究为小样本随机对照试验, 结论有待于进一步证实, 本研究的目的是为了系统评价熊去氧胆酸对胆汁反流性胃炎的疗效, 从而为其临床治疗提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Pubmed、Cochrane图书馆、中国期刊全文数据库(Chinese Journal Full-Text Database, CJFD)、中国生物医学文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、中国知网全文期刊数据库(China National Knowledge Internet, CNKI)、万方数据库、维普数据库(所有检索均截止2012-12), 用Google Scholar、Medical Martix等搜索引擎查找相关文献, 追查已纳入文献的参考文献, 若文章数据报道不详或相关资料缺乏, 通过邮件与作者进行联系。中文检索词: 熊去氧胆酸、胆汁反流性胃炎、碱性反流性胃炎、优思弗、随机对照试验、随机、对照。英文检索词: ursodeoxycholic acid、bile reflux gastritis、alkaline reflux gastritis、random、control、RCT。设计类型: 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验,

■研究前沿

熊去氧胆酸是一种二羟基胆酸, 在人类总胆汁中占3%, 服用后胆汁中有大量的熊去氧胆酸排出, 使脱氧胆酸和石胆酸的浓度相对减少, 通过改变胆汁内不同胆酸的比例, 相对地减少亲脂性、去污剂样的毒性胆汁酸的生成, 以减少对胃黏膜屏障的破坏, 具有疗效高、针对性强、不良反应少等特点, 或许可以为治疗胆汁反流性胃炎提供一个更好的选择。

■应用要点

通过本研究我们得知,熊去氧胆酸在改善胆汁反流性胃炎症状有一定疗效,且不良反应少,这为胆汁反流性胃炎的治疗拓展了新的方向,从而也可以更好地去指导临床实践,造福患者。

无论是否采用分配隐藏或盲法。研究对象:胆汁反流性胃炎患者,试验所纳入的患者年龄、性别、病例来源不限。诊断标准符合卫生部制定的胆汁反流性胃炎诊断标准^[6],或符合以下2个或2个以上标准时诊断成立:(1)上腹和/或胸骨后持续性灼烧痛,餐后加剧,腹胀,嗝气、口苦、呕吐胆汁样黄水;(2)内镜下见胃内胆汁存在,有胆汁斑,幽门口胆汁反流;(3)内镜病理学显示:黏膜糜烂、出血、间质水肿、血管扩张,程度不一(一般取胃窦小弯侧黏膜);(4)胃液pH \geq 3.0(通过胃镜活检孔插管抽取胃液10 mL,采用精密pH试纸检测,排除剧烈呕吐时胃液)。排除标准:(1)仅为描述性研究,未设立对照组;(2)重复发表及未获得全文的文献;(3)UDCA联合其他药物与安慰剂的随机对照试验,UDCA联合其他药物与UDCA的随机对照试验;(4)动物实验及非原始文献;(5)样本含量小($n<10$)。

1.2 方法

1.2.1 干预措施:治疗组给予UDCA联合质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)或促胃动力药或胃黏膜保护剂(UDCA与以上3类药物联合方式不限、剂量、用药方式、给药次数以及疗程不限),对照组干预措施为不包括UDCA的其他药物组合。

1.2.2 结局指标:主要指标:综合疗效、临床症状缓解率、胃镜下黏膜组织炎症改善情况、治愈率。其他:临床症状积分变化、幽门螺杆菌感染检测率、不良反应。总有效率=(治愈人数+显效人数+有效人数)/总人数,未提及治愈率的文献,其总有效率=(显效人数+有效人数)/总人数。其中综合疗效须将临床疗效与胃镜征象结合起来作为疗效判定,治愈率以胃镜征象为准,临床疗效用有效率表示或用其他方式表示者尽量还原成本研究所需要的格式加入本统计。

1.2.3 资料提取:由2位评价员对纳入文献进行资料提取,首先各自独立阅读文献题目及摘要,若是随机对照试验并出现随机字样的文献则阅读全文,提取内容包括第一作者、发表年份、干预措施、疗程以及临床疗效等,评价员对最后结果进行交叉核对,如产生分歧,通过讨论或由第3位评价员解决。

1.2.4 纳入研究质量评价:文献质量评价参考Cochrane系统评价员手册4.2.6版推荐的偏倚风险的评价工具对RCT的质量进行评价。

统计学处理 使用Revman5.0版软件进行数据统计分析,以OR及其95%CI为效应量,首先对

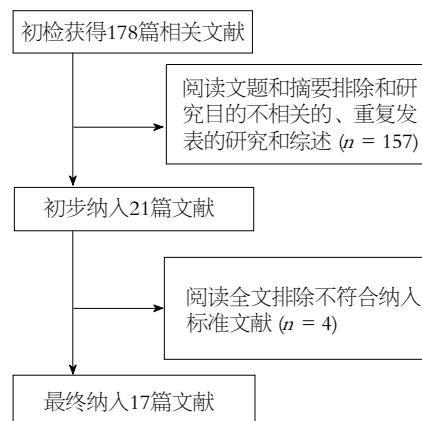


图1 文献纳入。

纳入研究行异质性检验,当 $P>0.1$ 、 $I^2<50\%$ 时,考虑研究结果有同质性,用固定效应模型分析,若 $P<0.1$ 、 $I^2>50\%$,则需分析异质性原因,按照设计方案、药物剂量、用药时间等因素的不同行亚组分析查找异质性原因。若研究间有统计学异质性而无临床异质性,采用随机效应模型分析以控制混杂因素,降低异质性程度。若研究结果间异质性过大或异质性来源不明时行描述性分析。当纳入研究的方法学质量不一而导致明显统计学异质性时,可剔除低质量研究行敏感性分析。通过漏斗图了解所纳入的研究是否存在发表偏倚。如计数资料则采用OR及其95%CI作为效应量,计量资料采用加权均数差及其95%CI作为效应量。

2 结果

2.1 文献检索 最终纳入17项研究^[7-23],包括1365例患者(图1),纳入研究的一般情况如表1所示。

2.2 纳入研究的质量评价 本研究所纳入的17篇RCT中,2篇^[10,13]应用了随机数字表分配方法,1篇^[17]按入院顺序随机分配,其余研究虽标明“随机”,但并未交代具体随机方法,所有研究均未报道盲法以及描述分配隐藏及失访情况,未行ITT分析,4篇^[9-11,23]无分组后患者的基线情况报道,所有文献评分均为C级别(表2)。

2.3 统计分析结果

2.3.1 综合疗效:纳入的17项RCT研究中,8项RCT^[7,8,10,13,14,18,19,23]报道了综合疗效(均以临床疗效与镜下疗效结合作为疗效评价标准),各研究间存在一定临床异质性,分别以干预措施不同做亚组分析,Meta分析结果如下(图2):(1)UDCA+PPI+促胃动力药 vs PPI+促胃动力药组:纳入3项RCT^[13,14,18],各研究间无统计学异

表 1 大鼠胰腺组织光镜下病理学评分(mean ± SD)

纳入研究	病例数	年龄(岁)	干预措施		疗程	结局指标
	试验组/对照组	试验组/对照组	试验组/对照组	剂量(mg)及用药方法	(wk)	
王占军 ^[7]	90/59	40.9/41.3	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	4	1
常兴亚 ^[8]	31/31	34.5	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	8	1
杨营军等 ^[9]	56/56	—	UDCA+莫沙必利/莫沙必利	250 mg, qd, po	8	2、3、5
许晓瑛 ^[10]	40/40	40.5 ± 3.6/ 40.3 ± 3.5	UDCA+莫沙必利/铝碳酸镁+ 莫沙必利	250 mg, qd, po	6	1
彭伟等 ^[11]	52/52	—	UDCA+多潘立酮/多潘立酮	250 mg, qd, po	8	2、3、5
杨兵等 ^[12]	15/15	21–53	UDCA+多潘立酮/多潘立酮	250 mg, qd, po	4	2、3
卢华君等 ^[13]	37/29	6–15	UDCA+奥美拉唑+多潘立酮/ 奥美拉唑+多潘立酮	10–15 mg/(kg · d), po	4	1
朱锦生等 ^[14]	44/40	37.2 ± 11.7/ 36.9 ± 12.3	UDCA+奥美拉唑+多潘立酮/ 奥美拉唑+多潘立酮	250 mg, qd, po	4	1
陈淮军 ^[15]	36/34	25–68	UDCA+奥美拉唑+莫沙必利/ 奥美拉唑+莫沙必利	250 mg, qd, po	4	2、3
刘晓建 ^[16]	48/48	37.2 ± 11.7/ 38.1 ± 10.2	UDCA+奥美拉唑+莫沙必利 / 奥美拉唑+莫沙必利	100 mg, tid, po	4	2、3
李华铭等 ^[17]	33/33	32.81 ± 11.10/ 32.02 ± 11.14	UDCA+埃索美拉唑+莫沙必利 /埃索美拉唑+莫沙必利	250 mg, qd, po	4	2、3、4
谢磊 ^[18]	54/50	41.8 ± 12.4/ 42.5 ± 12.9	UDCA+奥美拉唑+替普瑞酮+ 伊托必利/奥美拉唑+替普瑞 酮+伊托必利	250 mg, qd, po	4	1、3、4
韩元才 ^[19]	108/110	14–75	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/ 莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	1、4
周磊等 ^[20]	22/24	38.2/40.3	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/ 莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、5
张春燕 ^[21]	39/39	40.28 ± 11.59/ 41.36 ± 12.64	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/ 莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、4
张丽等 ^[22]	47/47	—	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/ 莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	2、3
杨林松等 ^[23]	28/27	36–75	UDCA+莫沙必利+铝碳酸镁/ 莫沙必利+铝碳酸镁	250 mg, qd, po	4	1、4、5

1: 综合疗效; 2: 临床症状总体疗效; 3: 胃镜下黏膜组织炎症改善情况; 4: 治愈率; 5: 其他。

质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.99$), 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义($OR = 4.01$, 95%CI: 1.92-8.35, $P = 0.0002$), UDCA组综合疗效优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 vs 促胃动力药组: 纳入3项RCT^[7,8,10], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.80$), 采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义($OR = 4.43$, 95%CI: 1.97-9.97, $P = 0.0003$), UDCA组综合疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 vs 促胃动力药+胃黏膜保护剂组: 纳入2项RCT^[19,23], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.84$), 采用固定效应模型进行Meta分析, Meta分析结果显示两组在综合疗效上的差异有统计学意义($OR = 4.11$, 95%CI: 1.95-8.68, $P = 0.0002$), UDCA组综合疗效优于对

照组。

2.3.2 临床症状缓解率: 9个RCT研究^[9,11,12,15-17,20-22]

报道了临床症状缓解率, 亚组分析结果(图3): (1)UDCA+PPI+促胃动力药 vs PPI+促胃动力药组: 纳入3项RCT^[15-17], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.55$), 采用固定效应模型合并效应量, 结果显示两组差异有统计学意义($OR = 4.75$, 95%CI: 1.72-13.15, $P = 0.003$), UDCA组疗效优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 vs 促胃动力药组: 纳入3项RCT^[9,11,12], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.99$), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义($OR = 3.52$, 95%CI: 1.18-10.45, $P = 0.02$), UDCA组疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 vs 促胃动力药+胃黏膜保护剂组: 纳入3项RCT^[20-22], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 4\%$,

同行评价

本文统计方法合理, 对临床治疗胆汁反流性胃炎有一定的指导作用。

表 2 纳入研究的方法质量学评价

纳入研究	基线相似	随机分配	盲法应用	隐藏分组	失访报道	ITT分析	质量等级
王占军 ^[7] 2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
常兴亚 ^[8] 2010	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨营军等 ^[9] 2010	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
许晓琰 ^[10] 2011	否	是	不清楚	不清楚	无	无	C
彭伟等 ^[11] 2009	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨兵等 ^[12] 2005	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
卢华君等 ^[13] 2011	是	是	不清楚	不清楚	无	无	C
朱锦生等 ^[14] 2009	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
陈淮军 ^[15] 2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
刘晓建 ^[16] 2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
李华铭等 ^[17] 2010	是	是	不清楚	不清楚	无	无	C
谢晶 ^[18] 2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
韩元才 ^[19] 2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
周磊等 ^[20] 2011	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
张春燕 ^[21] 2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
张丽等 ^[22] 2012	是	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C
杨林松等 ^[23] 2009	否	未描述	不清楚	不清楚	无	无	C

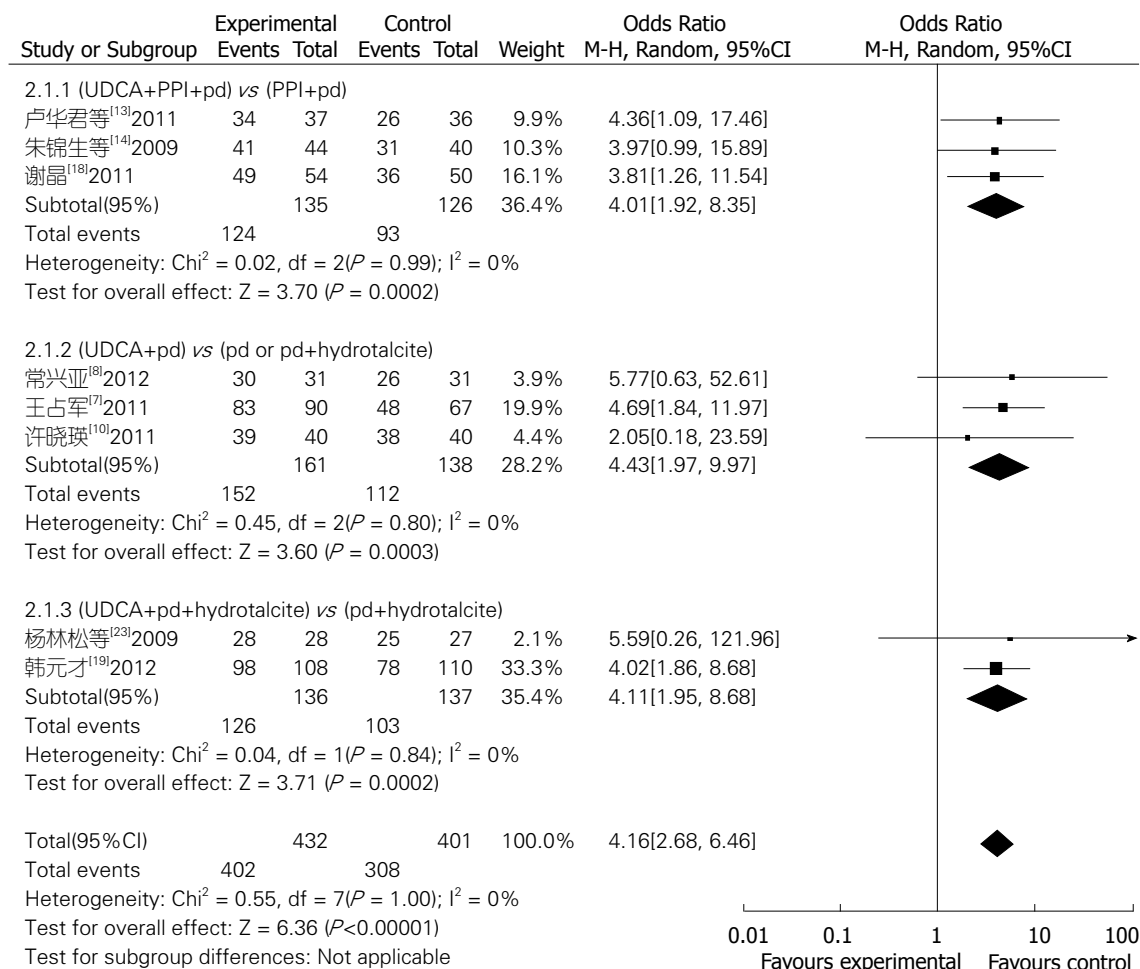


图 2 综合疗效比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

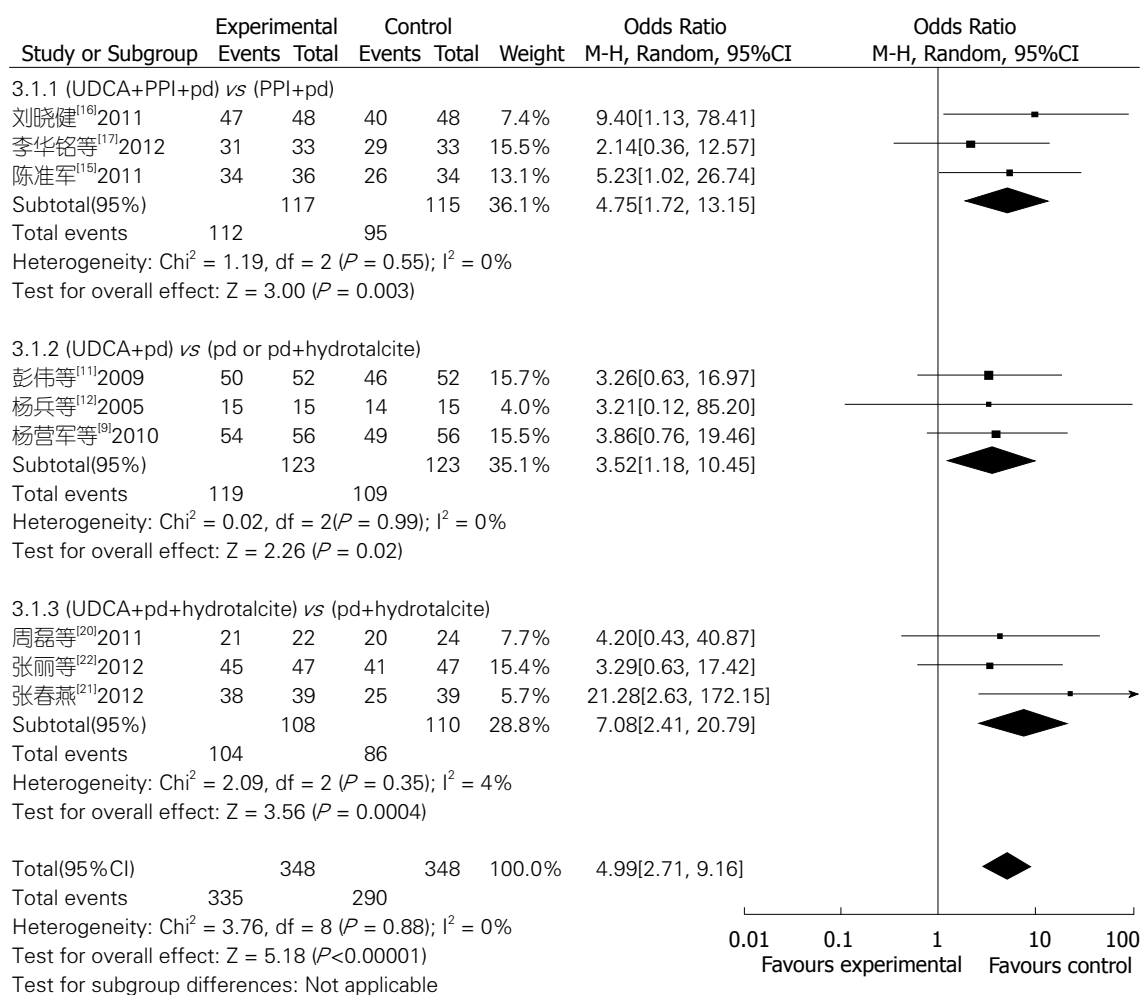


图3 临床症状缓解率比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

$P = 0.35$), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义[OR = 7.08, 95%CI: 2.41-20.7, $P = 0.0004$], UDCA组疗效优于对照组.

2.3.3 胃镜下黏膜组织炎症改善情况: 共有7项RCT^[9,11,15-18,22]报道了胃镜下黏膜组织的炎症改善情况, 亚组分析结果(图4): (1)UDCA+PPI+促胃动力药 vs PPI+促胃动力药组: 纳入4篇RCT^[15-18], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.98$), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异有统计学意义(OR = 4.45, 95%CI: 2.04-9.69, $P = 0.0002$), UDCA组胃镜下黏膜组织炎症改善情况优于对照组; (2)UDCA+促胃动力药 vs 促胃动力药组: 纳入2篇RCT^[9,11], 各研究间无统计学异质性($I^2 = 0\%$, $P = 0.84$), 采用固定效应模型行Meta分析, 结果显示两组差异无统计学意义(OR = 2.34, 95%CI: 0.78-6.98, $P = 0.13$), 尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组; (3)UDCA+促胃动力药+胃黏膜保护剂 vs 促胃动力药+胃黏膜保护剂组纳入1篇RCT^[22], 结果显示

两组差异无统计学意义($P = 0.13$), 尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组.

2.3.4 治愈率: 共有4篇^[17,19,21,23]文献提及治愈率, 其中1篇^[21]中痊愈指标是以临床症状消失、无阳性体征为疗效评价标准, 故不纳入分析, 其余3篇^[17,19,23]单独以胃镜征象或其结合临床表现为评价标准, 异质性检验结果显示各研究结果之间无异质性($P = 0.41$, $I^2 = 0\%$), 故采用固定效应模式进行合并分析, 结果显示合并效应量(OR = 1.92, 95%CI: 1.24-2.99, $P = 0.004$)差异有统计学意义, 提示UDCA组治愈率优于对照组(图5).

2.3.5 其他结局指标: (1) UDCA组与对照组在药物干预前后腹胀、腹痛、恶心、口苦、烧心、呕吐症状的积分变化, 纳入的17篇文献中, 有2篇^[12,23]提及以上两项或多项积分指标变化(根据症状严重程度记分, 症状严重程度评分标准: 轻度: 患者需经提醒方能记起有症状, 记1分; 中度: 有症状主诉但不影响生活, 记2分; 重度: 有

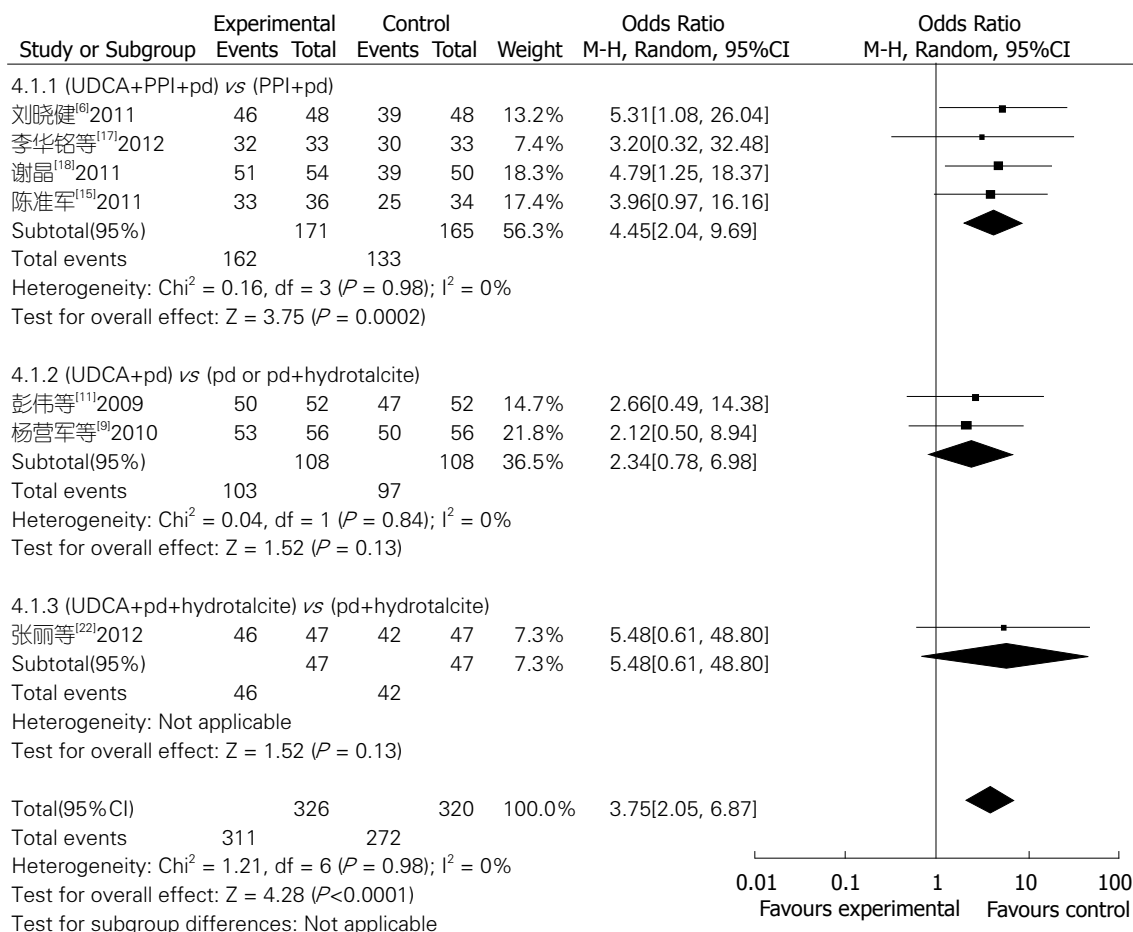


图4 胃镜下黏膜组织炎症改善情况比较的Meta分析. UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂.

症状主诉且影响日常生活, 记3分. 均于4 wk后观察症状积分变化, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 计算. 杨林松一文中提及了腹胀、腹痛、烧心、呕吐症状指标变化, UDCA组与对照组在治疗前后腹胀积分依次($2.3 \pm 0.7/0.9 \pm 0.7$, $2.4 \pm 0.6/1.8 \pm 0.9$), 腹痛($2.0 \pm 1.0/0.3 \pm 0.3$, $1.9 \pm 1.2/0.6 \pm 0.2$), 烧心($1.6 \pm 0.6/0.2 \pm 0.2$, $1.3 \pm 0.5/0.6 \pm 0.4$), 呕吐($1.3 \pm 0.8/0.2 \pm 0.1$, $1.4 \pm 0.7/0.8 \pm 0.2$), UDCA组症状积分下降值高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 杨兵一文提及腹痛、腹胀、恶心、呕吐指标变化, UDCA组与对照组在治疗前后积分依次为: 腹胀($2.5 \pm 1.3/0.6 \pm 0.3$, $2.5 \pm 1.1/0.8 \pm 0.5$), 腹痛($2.2 \pm 1.2/0.9 \pm 0.5$, $1.9 \pm 1.2/1.0 \pm 0.7$), 恶心($1.9 \pm 1.0/0.6 \pm 0.4$, $1.8 \pm 1.1/0.6 \pm 0.3$), 呕吐($0.1 \pm 0.6/0.2 \pm 0.1$, $1.1 \pm 0.8/0.4 \pm 0.1$), 两组治疗后差异有统计学意义($P < 0.05$); (2)*H. pylori*感染检测: 2篇文献^[9,11]对UDCA组患者进行了 ^{14}C 呼气实验, 彭伟一文中提及UDCA+多潘立酮联合组治疗前*H. pylori*(+)者28例, *H. pylori*(-)者24例, 治疗结束后在*H. pylori*(+)患者中, 23例显效, 有效4例, 无效1例, 总有效率

96.42%, *H. pylori*(-)患者中, 22例显效, 有效1例, 无效1例, 总有效率95.83%, 两组患者治疗总有效率无显著差异. 杨营军的研究中提及UDCA+莫沙必利联合组*H. pylori*(+), *H. pylori*(-)患者分别为30例、26例, 治疗结束后*H. pylori*(+)患者中, 24例显效, 4例有效, 2例无效, 总有效率93%. *H. pylori*(-)患者中23例显效, 1例有效, 2例无效, 总有效率92%, 两组比较($P < 0.05$), 无显著差异; (3)不良反应发生情况: 6篇^[10,13,14,17,19,20]提及了是否发生药物不良反应, 其中5篇^[13,14,17,19,20]报告两组均未出现不良反应, 1篇^[10]报道了对照组3例患者出现稀便, 未做特殊处理自行缓解, 其余11篇均未提及不良反应.

2.3.6 发表偏倚分析: 最常见的识别发表偏倚的方法就是漏斗图法, 当出现漏斗图不对称时, 则可能提示存在发表偏倚, 现将9项研究的综合疗效亚组行偏倚分析, 结果显示不对称, 提示存在发表偏倚(图6).

3 讨论

3.1 疗效以及安全性 本系统评价共纳入17项研

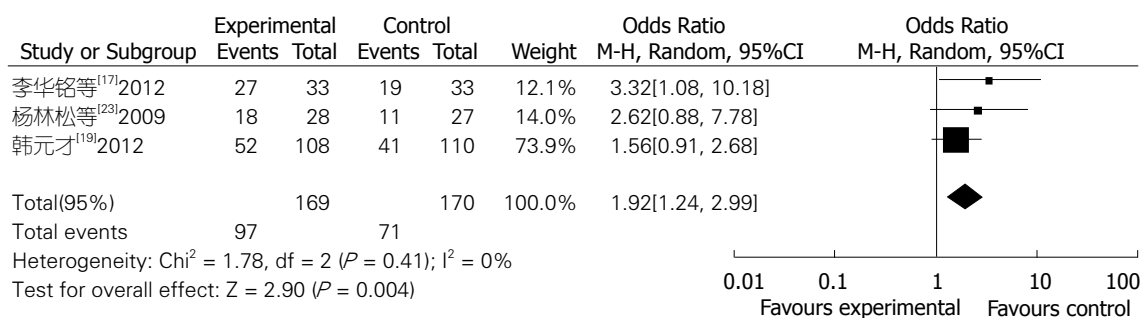


图 5 治愈率比较的Meta分析。

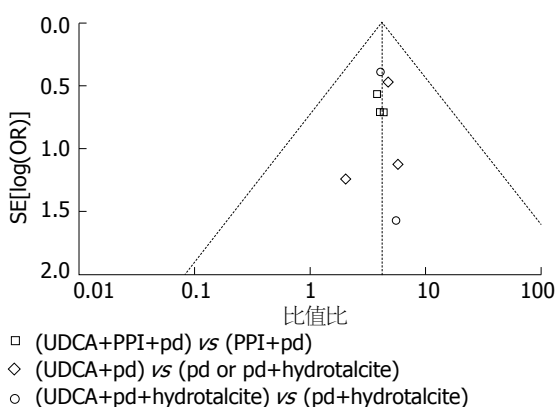


图 6 综合疗效亚组分析的漏斗图。UDCA: 熊去氧胆酸; PPI: 质子泵抑制剂。

究^[7-23], 其中8项RCT^[7,8,10,13,14,18,19,23]报道了综合疗效, 9项RCT研究^[9,11,12,15-17,20-22]报道了临床症状总体疗效, 7项RCT^[9,11,15-18,22]报道了胃镜下黏膜组织的炎症改善情况, 根据干预措施不同行亚组分析, Meta分析结果表明: (1)综合疗效与临床症状缓解率方面: 各UDCA组优于对照组; (2)胃镜下黏膜组织炎症改善情况方面: 亚组内除“UDCA+PPI+促胃动力药 vs PPI+促胃动力药”组差异有统计学意义、提示UDCA组优于对照组外, 另两组干预措施差异无统计学意义, 表明证据尚不足以证明UDCA组疗效优于对照组, 其统计学无差异原因考虑: 可能由于纳入研究方法质量评价较低、且有一定临床异质性, 另不排除亚组内纳入研究少、样本量减少导致的检验效能下降, 可信区间变大, 出现假阳性或假阴性可能, 亚组分析不可避免的会带来一定的实验偏差, 遂需要更加严谨的RCT以反复证实其疗效; (3)治愈率方面, UDCA组优于对照组; (4)临床症状积分方面, 有2篇^[12,23]提及以上两项或多项积分指标变化, 均提示UDCA组优于对照组; (5)*H. pylori*感染检测: 2篇文献^[9,11]对UDCA组患者进行了¹⁴C呼气实验, 结果表明UDCA组的*H. pylori*(+)、

H. pylori(-)患者在治疗结束后, 其总有效率无显著差异, 表明*H. pylori*的存在对其临床疗效可能无干扰作用, 目前对于*H. pylori*与胆汁反流性胃炎的关系尚有争议, 应进一步行大规模的临床多中心研究, 建立动物模型平台进行单因素的逐一研究等明确两者有无关联; (6)不良反应: 仅有6篇^[10,13,14,17,19,20]提及了是否发生药物不良反应, UDCA组未报道不良反应事件。

3.2 本系统评价的局限性以及对未来研究的启示 (1)纳入研究的方法质量学较低, 仅2篇文献描述了用随机数字表法分组, 1篇文献按照入院先后顺序随机分组, 其余均未提及具体的随机方法, 所有研究未描述采用分配隐藏、盲法, 存在不同程度的选择偏倚、实施偏倚、测量偏倚风险, 提示今后开展RCT时应采用正确的随机方法、分配隐藏方案及盲法, 报告失访情况, 以减少上述偏倚; (2)由于纳入文献中患者年龄及病变严重程度、用药时间与剂量、疗程等方面的差异, 各研究有一定临床异质性, 且有3篇文献未提及基线情况, 这些均会影响结论的可靠性, 提示今后的临床试验应注意统一药物剂量、规范观察时间、基线问题; (3)本系统评价仅纳入了中文文献, 至今尚未搜索到符合纳入标准的英文文献及其他未发表文献, 存在语言偏倚和发表偏倚; (4)纳入的研究未进行长期随访, UDCA的远期疗效, 不得而知, 本文仅有6篇文献提及不良反应, 其余均未报道, 缺乏对药物不良反应的重视, 应对药物可能出现的不良反应进行长期跟踪报道。

总之, UDCA治疗胆汁反流性胃炎具有一定疗效, 就目前而言, 有关报道熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的随机对照试验研究质量普遍不高, 对结论的可靠性可能有影响, 本系统评价中, 根据其药物干预措施的不同进行了亚组分析, 由于亚组内纳入的文献数量较少, 进行数据合

并难以得到更为肯定的疗效,其结论需要谨慎对待,因此尚需要开展更多大样本、多中心的RCT以进一步论证其疗效。

4 参考文献

- 1 马凯峰. 联合用药治疗胆汁反流性胃炎54例. 中国中医药现代远程教育 2010; 167
- 2 Dewar EP, King RF, Johnston D. Bile acid and lysolecithin concentrations in the stomach of patients with gastric ulcer: before operation and after treatment by highly selective vagotomy, Billroth I partial gastrectomy and truncal vagotomy and pyloroplasty. *Br J Surg* 1983; 70: 401-405 [PMID: 6871619]
- 3 Armstrong D, Rytina ER, Murphy GM, Dowling RH. Gastric mucosal toxicity of duodenal juice constituents in the rat. Acute studies using ex vivo rat gastric chamber model. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 327-339 [PMID: 8313815]
- 4 Sullivan TR, Cordero JA, Mercer DW, Ritchie WP, Dempsey DT. Selective lipoxygenase inhibitor reduces bile acid-induced gastric mucosal injury. *J Surg Res* 1992; 53: 568-571 [PMID: 1494289]
- 5 徐肇敏, 章宜芬, 任雪峰. 熊去氧胆酸及普瑞博思治疗碱性反流性胃炎的实验研究. 中华消化杂志 1997; 17: 201-203
- 6 汪鸿志. 慢性胃炎的治疗. 第六届中国医师论坛
- 7 王占军. 熊去氧胆酸联合莫沙必利治疗胆汁反流性胃炎90例疗效观察. 药物与临床 2011; 24: 156-157
- 8 常兴亚. 熊去氧胆酸辅助治疗原发性胆汁反流性胃炎效果观察. 中国实用医刊 2012; 39: 89-90
- 9 杨营军, 魏艳. 莫沙必利联合熊去氧胆酸治疗原发性胆汁反流性胃炎168例. 中国医学创新 2010; 7: 68-69
- 10 许晓瑛. 优思弗与达喜治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 河北医科大学学报 2011; 32: 193-194
- 11 彭伟, 范红, 周雁, 唐晓丹, 何旭, 汤敏. 熊去氧胆酸联合多潘立酮治疗原发性胆汁反流性胃炎156例临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 732-734
- 12 杨兵, 谭朝晖, 陈朝霞, 胡红松, 郭文栋. 熊去氧胆酸和多潘立酮片治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 临床医药实践杂志 2005; 14: 811-813
- 13 卢华君, 赵志艳, 李云芳, 闫秀梅, 黄开宇, 胡伟国. 熊去氧胆酸治疗儿童胆汁反流性胃炎的疗效及安全性. 现代实用医学 2011; 23: 192-194
- 14 朱锦生, 史伟. 联合熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 河北医学 2009; 15: 1459-1461
- 15 陈淮军. 熊去氧胆酸联合抑酸促动力剂治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 现代消化及介入治疗 2011; 16: 266-267
- 16 刘晓建. 熊去氧胆酸联合治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 基层医学论坛 2011; 15: 1093-1094
- 17 李华铭, 溥志泉. 熊去氧胆酸联合埃索美拉唑治疗胆汁反流性胃炎疗效分析. 全科医学临床与教育 2012; 10: 339-341
- 18 谢晶. 联合熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎的疗效观察. 吉林大学第二医学院, 2011: 1-42
- 19 韩元才. 熊去氧胆酸治疗胆汁反流性胃炎108例临床分析. 中国当代医药 2012; 19: 71
- 20 周磊, 杨青峰, 张旭. 熊去氧胆酸联合治疗原发性胆汁反流性胃炎的疗效观察. 中华全科医学 2011; 9: 751-814
- 21 张春燕. 熊去氧胆酸联合治疗胆汁反流性胃炎疗效观察. 健康必读杂志 2012; (5): 415
- 22 张丽, 郭强, 岳伟. 联合治疗原发性胆汁反流性胃炎的疗效分析. 医学信息 2012; 25: 178-179
- 23 杨林松, 徐道静. 熊去氧胆酸联合莫沙必利和铝碳酸镁治疗胆汁反流性残胃炎的疗效观察. 南京医科大学学报 2009; 11: 1611-1613

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义

孙伟, 高芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹

孙伟, 龙启福, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹, 青海大学医学院基础医学部 青海省西宁市 810016

高芳, 青海大学附属医院重症ICU科 青海省西宁市 810001
王晓龙, 青海大学附属医院胃肠肿瘤外科 青海省西宁市 810001

孙伟, 博士, 主要从事肿瘤的基础与临床研究。

青海大学医学院中青年教师科研基金资助项目, No. 2012-KYT-03

作者贡献分布: 孙伟与高芳对此文所作贡献均等; 课题由孙伟设计; 研究过程由孙伟、高芳、龙启福、王晓龙、朱德锐、顾存林、安娟、党国全及吴穹操作完成; 研究所用试剂与分析工具由孙伟提供; 数据分析由高芳完成; 本论文写作由孙伟、高芳及龙启福完成。

通讯作者: 孙伟, 讲师, 810016, 青海省西宁市城北区宁张路97号, 青海大学医学院基础医学部生物化学与分子生物学实验室。sw3583425@163.com

电话: 0971-6144524

收稿日期: 2013-08-07 修回日期: 2013-08-27

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer

Wei Sun, Fang Gao, Qi-Fu Long, Xiao-Long Wang, De-Rui Zhu, Cun-Lin Gu, Juan An, Guo-Quan Dang, Qiong Wu

Wei Sun, Qi-Fu Long, De-Rui Zhu, Cun-Lin Gu, Juan An, Guo-Quan Dang, Qiong Wu, Department of Basic Medical Sciences, Qinghai University Medical College, Xining 810016, Qinghai Province, China

Fang Gao, Department of ICU, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, Qinghai Province, China

Xiao-Long Wang, Department of Gastrointestinal Cancer Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, Qinghai Province, China

Supported by: Research Fund for Young Teachers by Qinghai University Medical College, No. 2012-KYT-03

Correspondence to: Wei Sun, Lecturer, Department of Basic Medical Sciences, Qinghai University Medical College, 97 Ningzhang Road, Chengbei District, Xining 810016, Qinghai Province, China. sw3583425@163.com

Received: 2013-08-07 Revised: 2013-08-27

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To clarify the specificity and biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes (fold change < 1.5) in gastric cancer by Bayesian analysis of gene expression levels (BAGEL) analysis.

METHODS: The mRNA expression of DNA (cy-

tosine-5-)-methyltransferase 3 alpha (DNMT3A), development and differentiation-enhancing factor 2 (DDEF2) and cluster of differentiation 59 (CD59) was clustered by Cluster 3.0. Machine study and pattern recognition analysis was used to study the feature of weakly differentially expressed genes. The functions of CD59, DDEF2 and DNMT3A were analyzed using GoMiner. The mRNA expression of CD59, DDEF2 and DNMT3A in tissues was detected by RT-PCR.

RESULTS: We have collected 62 classification characteristic genes from 64 weakly differentially expressed genes and obtained 4 strongest classification genes by machine study and pattern recognition analysis. GoMiner analysis showed that these weakly differentially expressed genes were associated with cell adhesion, phagocytosis, immunological regulation, gene methylation and transcription regulation. Furthermore, the differential expression of these genes in tissue samples was confirmed by RT-PCR.

CONCLUSION: Profiling of weakly differentially expressed genes by BAGEL analysis is specific and allows to identify genes that are closely related to tumorigenesis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Gene expression profiling; CD59; DDEF2; DNMT3A

Sun W, Gao F, Long QF, Wang XL, Zhu DR, Gu CL, An J, Dang GQ, Wu Q. Biological significance of profiling of weakly differentially expressed genes in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2717-2723
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2717.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2717>

摘要

目的: 明确用基因表达水平的贝叶斯分析 (Bayesian analysis of gene expression levels, BAGEL) 所建立的胃癌弱差异基因表达谱 (fold change<1.5) 的特异性及生物学意义。

方法: Cluster3.0聚类分析基因DNA甲基转

■背景资料

基因芯片技术在生物领域广泛应用, 但由于其自身的噪音及统计学方法的差异等因素使基因芯片结果的实验室验证更多集中在差异倍数大于2的基因。本文针对利用BAGEL统计学方法建立的胃癌弱差异表达基因进行了实验室验证, 旨在探讨弱差异表达基因在胃癌发生发展中的生物学意义。

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■ 研发前沿

胃癌发生发展中的特征基因的探寻是胃癌诊疗中研究的热点及重点, 众多研究借助基因芯片技术进行了高通量的筛选以期获得目的基因, 但不同统计方法使结果迥异。因此在当前基因芯片自身缺陷难以突破的状况下, 寻找适合的统计方法得到有意义的统计结果是当前亟待解决的关键问题之一。

移酶3A[DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha, DNMT3A]、发育分化增强因子2 (development and differentiation-enhancing factor 2, DDEF2)、分化群59(cluster of differentiation 59, CD59)的表达; 机器学习和模式识别技术对弱差异基因表达谱(fold change<1.5, $P<0.001$)进行特征提取; GoMiner软件分析弱差异表达基因DNMT3A、DDEF2、CD59的生物学功能; RT-PCR在实验室验证弱差异表达基因DNMT3A、DDEF2、CD59在胃癌及癌旁配对组织中mRNA的表达水平。

结果: 从弱差异基因表达谱中得到能够识别样本类别的62个分类特征基因和4个分类能力较强的基因; GoMiner分析表明这组基因参与细胞黏附、细胞吞噬、免疫调节、基因甲基化、转录调控等重要生物学作用; RT-PCR确定基因表达变化与芯片中基因表达谱的数据一致, 证实了弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性。

结论: 通过BAGEL分析得到的fold change<1.5的弱差异基因表达谱灵敏可靠, 在肿瘤发生发展中关系密切。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 基因表达谱; CD59; DDEF2; DNMT3A

核心提示: BAGEL统计学方法建立的弱差异表达基因谱灵敏可靠, 弱差异表达基因与胃癌关系密切, 为胃癌特征基因的筛选提供了新的思路。

孙伟, 高芳, 龙启福, 王晓龙, 朱德锐, 顾存林, 安娟, 党国全, 吴穹. 胃癌弱差异基因表达谱建立的生物学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2717-2723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2717.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2717>

0 前言

基因芯片技术自上世纪90年代在美国率先发展起来后, 已被广泛应用于各种生物学研究领域。其中最重要应用之一就是确定样本在不同条件下的差异表达基因, 来明确某种因素对基因表达的调控作用。一般而言, 目前在生物学研究领域, 往往利用芯片进行全基因组的扫描来初筛可能的差异表达基因, 然后再采用逆转录PCR反应(RT-PCR)或核酸印迹分析(Northern blot)等实验手段来对基因芯片筛选出的差异表达基因进行验证。但由于基因芯片信号噪音偏

大, 芯片数据的不同分析方法等主客观因素都会对结果产生显著的影响^[1]。所以在选择差异表达基因验证方法时, 往往选择基因变化倍数为2倍以上的基因作进一步分析, 而大量的变化倍数为2倍以下的基因被删除, 这些基因是否真的是无关基因并没有确切的证据。而Yan等^[2]通过对结肠腺瘤样息肉(adenomatosis polyposis coli, APC)基因的定量分析发现该基因表达的微弱减少与遗传的结直肠癌发生有关, 提示弱差异表达基因可能在肿瘤的发生发展中有更重要的功能。因此, 对弱差异表达基因的认识亟待深入认识。

Zang等^[3]采用SAM^[4]和BAGEL^[5]两种统计学方法进行差异表达基因的统计学推断, 并利用基因表达水平的贝叶斯分析(Bayesian analysis of gene expression levels, BAGEL)建立了胃癌差异表达基因谱。Guo等对fold change>1.5的55个具有重要生物学功能的差异表达基因进行了验证, 获得了与芯片杂交数据一致的结果, 吻合率为98%(54/55)。为了继续明确基因表达谱中弱差异表达基因(fold change<1.5, $P<0.001$)的敏感性、特异性和生物学意义, 我们在Zang等^[3]建立的弱差异表达基因的基础上进行了进一步生物信息学分析, 并选取部分基因进行了生物学功能分析及实验室验证, 探讨弱差异表达基因在胃癌发生发展过程中的生物学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 胃肿瘤组织标本来自青海大学附属医院于2005-05/2005-10收治的胃肿瘤患者20例(男13例, 女7例), 年龄51-87岁(中位年龄65岁)。所有标本获得患者知情同意, 均由胃癌组织及相距5 cm以上的癌旁正常组织配对组成, 标本手术切除后立即放于液氮, -80 °C冻存备用。

1.2 方法

1.2.1 聚类分析法: 聚类分析采用Cluster 3.0^[6]芯片分析工具, 分析过程采用average linkage算法。

1.2.2 机器学习和模式识别法: 以每个基因所含的20对胃癌组织与癌旁正常配对组织的样本分类信息的指标作为尺度来过滤与样本分类无关的噪声基因, 然后采用支持向量机(support vector machine, SVM)作为分类器对特征基因集合的分类能力进行检验。从而由原始基因集合中提取出最能反映样本分类的特征基因集合。

1.2.3 基因功能注释法: 功能注释分析采用GoMiner^[7]软件, 该软件可从分子功能、细胞定

表 1 半定量RT/PCR引物序列表

基因名称	引物序列	扩增长度(bp)
<i>DDEF2</i>	上游 5'-GGCGACTACTCCACGAAGACC-3'	229
	下游 5'-AGGAGGGCTCCGTAAGTCTCA-3'	
<i>CD59</i>	上游 5'-TGC GTGTCTCATTACCAAA-3'	258
	下游 5'-GCTCTCCTGGTGTGACTTAG-3'	
<i>DNMT3A</i>	上游 5'-GCACTGAAATGGAAAGGGTAT-3'	196
	下游 5'-ACTCCATCGCTGTGTTTCAAT-3'	
β -actin-1	上游 5'-TTAGTTGCGTTACACCTTTC-3'	150
	下游 5'-ACCTTCACCGTTCCAGTTT-3'	
β -actin-2	上游 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3'	295
	下游 5'-CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'	

DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

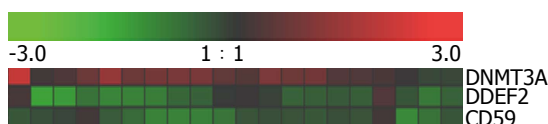


图 1 *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*基因聚类分析比较在芯片中的异常表达. *DNMT3A*: DNA甲基转移酶3A; *DDEF2*: 发育分化增强因子2; *CD59*: 分化群59.

位以及生物学过程三方面对基因进行系统分析, 并形成相应的定向无环图和树型结构. 点击树型结构中的基因可以直接链接到外挂的信息库: 如LocusLink、PubMed、MedMiner、GeneCards、NCBI's Structure Database、BioCarta、KEGG、CGAP等, 从而得到信息的整合.

1.2.4 逆转录聚合酶链反应法: 总RNA提取及逆转录聚合酶链反应法(reverse transcription-PCR, RT-PCR)参照文献[8]. PCR反应: 以cDNA为模板, β -actin作为内参, Taq酶购自Takara公司, 内参和目的基因的扩增在同一反应中扩增. PCR参数: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 53 °C 30 s, 72 °C 30 s, 分化群59(cluster of differentiation 59, *CD59*)、发育分化增强因子2(development and differentiation-enhancing factor 2, *DDEF2*)、DNA甲基转移酶3A[DNA(cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha, *DNMT3A*]循环次数分别为22、26、28; 72 °C 延伸5 min. 引物序列如表1所示. 扩增的PCR产物于20 g/L琼脂糖凝胶电泳, 电压100 V, 20 min, Alphamager2200v5.5凝胶图像分析系统摄片并测定分析其光密度.

统计学处理 各个样本基因表达水平表达量的相对值 = 扩增条带灰度值/ β -actin扩增条带灰度值; 癌与癌旁表达差异用 t 检验及百分比同时进行统计分析. $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

■ 相关报道

人们很少对差异倍数小于2倍的弱差异表达基因基因芯片进行实验室验证, 但Yan等对结肠腺瘤样息肉(adenomatosis polyposis coli, *APC*)基因的定量分析发现该基因表达的微弱减少与遗传的结直肠癌发生有关, 提示弱差异表达基因可能在肿瘤的发生发展中有更重要的功能. 因此, 对弱差异表达基因的认识亟待深入认识.

2 结果

2.1 *DNMT3A*、*DDEF2*、*CD59*基因聚类分析比较 以BAGEL确定的弱差异基因表达谱为基础, 利用Cluster3.0软件采用average linkage算法分析比较了弱差异表达基因*CD59*、*DDEF2*、*DNMT3A*的聚类结果. 显示了这3个基因在胃癌组织相较于癌旁正常组织时的表达变化: *DNMT3A*在胃癌组织中为高表达, *DDEF2*、*CD59*在胃癌组织中为低表达(图1, 红色: 基因表达水平上调; 绿色: 基因表达水平下调; 黑色: 基因表达变化不明显).

2.2 机器学习和模式识别提取特征基因结果 从20对胃癌及癌旁正常配对样本中各选取15对样本作为训练集, 其余5对样本作为测试集. 在训练样本集上计算每个基因的分类信息指数, 并作出了基因分类信息指数散点图(图2A). 分类信息指数越大这个基因的分类能力越强, 说明这个基因在两类样本中的特征越明显, 越有可能成为靶基因. 图中红色圆圈中的基因是信息指数比较大的4个基因: 分别是*TINF2*、*ELK1*、*COX17*、*CD59*.

从64个基因构成的特征集合F64开始到一系列具有不同维数的分类特征子集F64、F63、...F1. 当特征基因集合等于32个基因的时候, 基因集合的样本错分率为零, 直到集合中的基因为62个的时候, 其样本分类正确率达100%. 但是特征基因集合增加2个基因到64的时候分类正确率仅为50%, 这2个基因分别是*BC017696*基因和*DGCR2*基因, 说明这2个基因是冗余基因(图2B); 弱差异基因表达谱中有62个分类特征基因集合(62/64, 97%)能够有效识别胃癌样本类别.

■ 创新盘点

本文以很少被学者关注的胃癌弱差异基因谱为研究对象,系统验证弱差异表达基因及其生物学功能,进而分析胃癌弱差异表达基因的生物学意义,为胃癌标志基因寻找新的切入点。

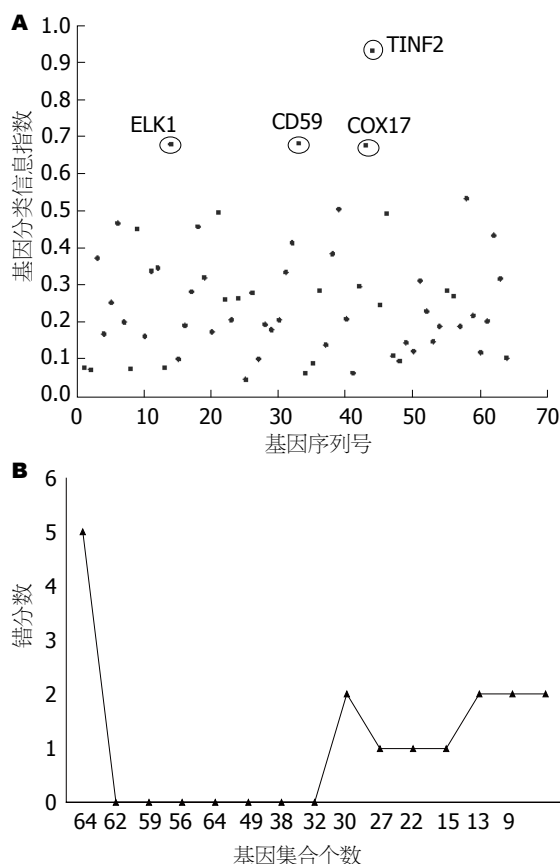


图2 机器学习和模式识别提取特征基因。A: 训练集上分类信息指数散点图; B: 不同特征基因集合的样本分类能力。

2.3 GoMiner软件功能注释结果 GoMiner软件注释三个弱差异表达候选基因。结果表明DNMT3A主要具有甲基转移酶的活性,在精子发生、胚胎发育与分化、DNA甲基化、甲基化依赖的染色质失活、基因转录抑制等方面具有重要作用(图3A); DDEF2主要具有蛋白结合、GTP酶激活活性,在整联蛋白介导的信号途径、GTP酶活性调节等重要生物学途径中具有重要作用(图3B); CD59主要具有蛋白结合、糖基磷脂酰肌醇锚结合活性,在补体活性的调节等重要生物学途径中具有重要调节作用(图3C)。

2.4 DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA在胃癌和癌旁正常组织中的差异表达 对20对胃癌/癌旁配对组织进行RT-PCR凝胶电泳成像及灰度值扫描计算表达相对量,分析mRNA表达差异(图4,表2)。DDEF2与CD59基因在胃癌组织中低表达,在16例胃癌组织中表达水平低于配对的癌旁正常组织(16/20, 80%, $P<0.001$); 而DNMT3A基因在肿瘤组织中高表达,在17例胃癌组织中表达水平高于配对的癌旁正常组织(17/20, 85%, $P<0.001$)。基因表达灰度变化倍数为胃癌组织与癌旁正常组织中基因表达量相对值的平均

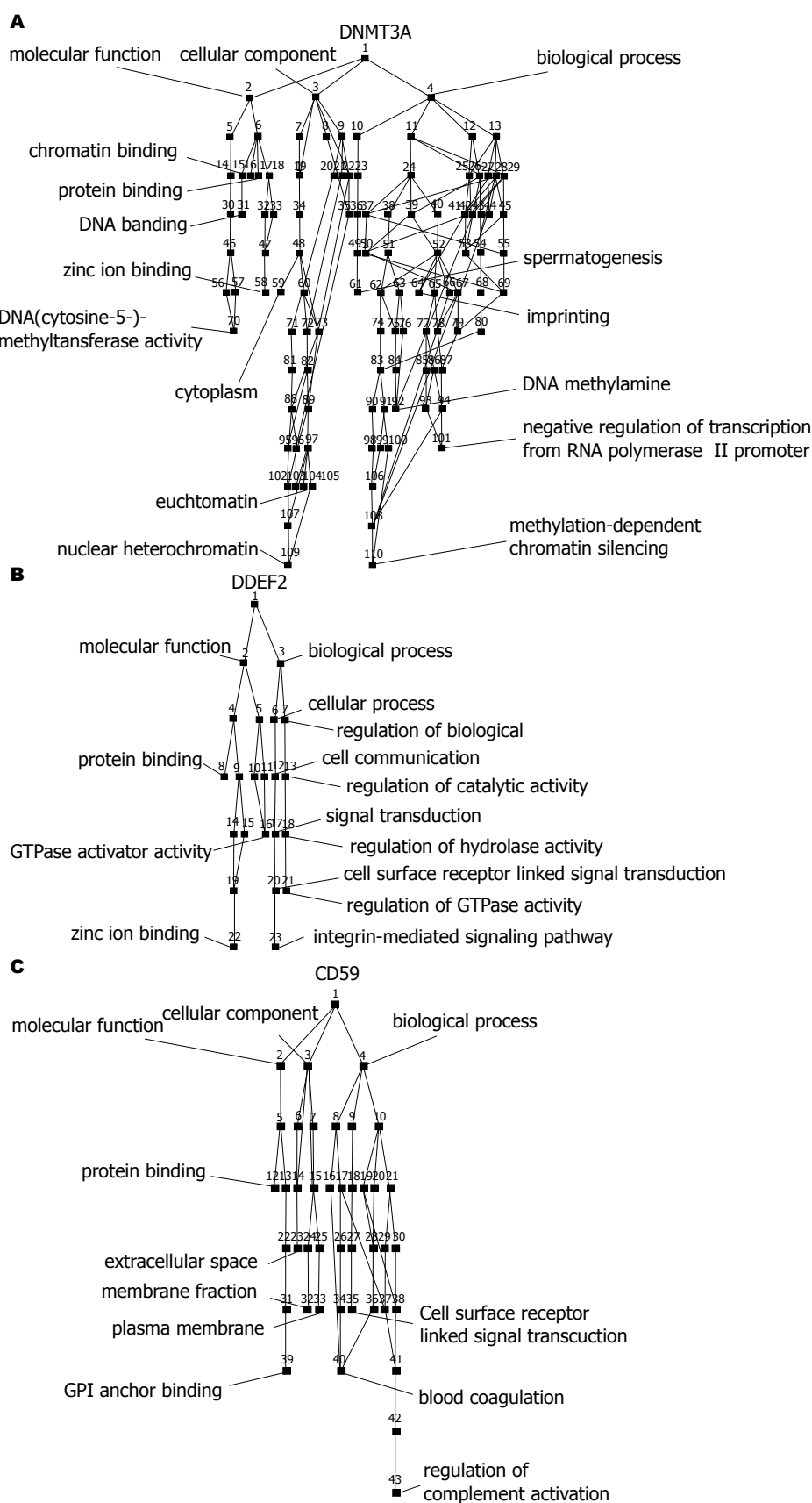
值之比,比较实验室灰度变化倍数与基因芯片变化倍数发现两者变化倍数一致, DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA表达变化倍数分别为1.13 vs 1.10、1.06 vs 1.01、1.30 vs 1.40。

3 讨论

1990年基因芯片作为一种高新的生物学实验技术率先在美国发展起来, Schena等^[9]首次报道利用基因芯片技术定量监测基因表达模式以来,芯片技术不断地应用于各种生物学研究领域,并迅速发展成为基因组学和系统生物学研究的重要工具。随着芯片技术的不断完善,其实验数据的可重复性和可靠性明显增加,但选择不同的数据整理和分析方法对于结果的有显著的影响^[10]。强差异表达基因易于实验室验证,但由于基因芯片噪音及统计学方法等不同因素所确立的弱差异表达基因(fold chang<1.5)一般难以验证,其在胃癌中的生物学意义也亟待明确。基于Zang等^[3]建立的胃癌弱差异基因表达谱具有较高的敏感度和可靠性,有助于进一步实验室验证及生物学功能研究。

机器学习和支持SVM模式识别技术主要用来进行肿瘤分类,其分类能力也反应了表达谱的灵敏性。因此,我们对弱差异基因表达谱进行了进一步的生物信息学研究。在基因表达谱数据的分析中,该方法对弱差异基因表达谱的分析得到了能够100%识别胃癌和癌旁组织的62个分类特征基因(62/64, 97%)和4个分类能力较强的特征基因:即TINF2、ELK1、COX7和CD59。从另一个侧面理论证实了弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性。在此基础上,选择了具有强分类能力的特征基因CD59及另外两个弱差异表达基因DDEF2、DNMT3A进行了实验室验证,证实这3个基因以及另一个弱差异表达基因TINF2^[11]均与芯片数据保持一致,一致率达到100%(4/4)。实验室验证的结果说明胃癌弱差异基因表达谱的可靠性和灵敏性,利于进一步探讨其生物学意义。

我们综合应用生物信息学及文献检索对弱差异基因表达谱基因功能进行进一步的确定,以明确弱差异表达基因并非肿瘤发生的无关基因,甚至可能是肿瘤发生过程中的关键基因,为肿瘤研究方向提供新的思考方向。通过高通量GoMiner的信息整合,我们发现这64个弱差异表达基因的重要的生物学功能主要表现在血管形成、免疫调节和基因转录调控等方面,更多地



■应用要点

通过基因芯片技术筛选胃癌特征基因忽略了大量的弱差异表达基因,但这些弱差异表达基因在胃癌的发生发展中可能具有极其重要的生物学功能。因此本研究为阐明弱差异表达基因的筛选方法及其在胃癌中的角色具有重要意义,为胃癌特征基因的筛选提供了新的思路。

图 3 GoMiner注释DNMT3A、DDEF2、CD59的生物学功能. DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

■名词解释

弱差异表达基因: 差异基因谱中基因表达差异倍数一般介于0.5-2倍的基因;

BAGEL: Bayesian analysis of gene expression levels, 简称BAGEL, 由 Jeffrey Townsend 研发. 是用于分析 spotted microarray 数据的统计学工具;

DNMT3A: DNA 甲基转移酶 3A, 参与胚胎发育、遗传印迹及x染色体失活等现象中 DNA CpG岛中胞嘧啶的从头甲基化过程;

DDEF2: 发育分化增强因子2, 该基因编码的蛋白定位于高尔基和质膜, 与蛋白酪氨酸激酶2-β相互作用形成复合体并被激活的蛋白酪氨酸激酶磷酸化. 可能与小泡的转运调节有关;

CD59: 分化群59, 补体调节蛋白. 编码的蛋白位于细胞膜表明形成糖蛋白调节补体介导的溶细胞作用, 并与淋巴细胞的信号转导有关.

表 2 DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA在胃癌/癌旁正常组织中的表达 (n)

临床样本	n	DNMT3A			DDEF2			CD59		
		高表达	低表达	P值	高表达	低表达	P值	高表达	低表达	P值
胃癌	20	17	3	<0.001	4	16	<0.001	4	16	<0.001
癌旁	20	3	17		16	4		16	4	

DNMT3A: DNA甲基转移酶3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

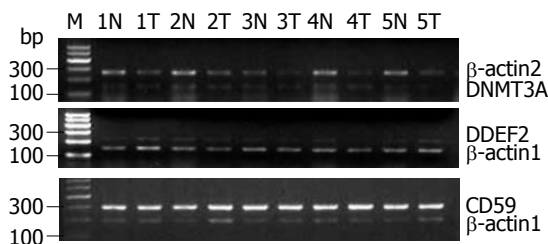


图 4 DNMT3A、DDEF2、CD59 mRNA在胃癌/癌旁正常组织中的表达. N: 正常; T: 肿瘤. DNMT3A: DNA甲基转移酶 3A; DDEF2: 发育分化增强因子2; CD59: 分化群59.

与细胞营养, 不同基因的表达调控等代谢方面有更紧密地联系. 在实验室验证的3个基因均与肿瘤发生发展有密切联系. 研究发现DNMT3A与P53^[12]、组蛋白甲基转移酶SETDB1^[13]相互作用, 其与结直肠癌^[14]、胰腺癌^[15]、胃癌^[16]等肿瘤相关. DDEF2是蛋白酪氨酸激酶2(PYK2)和SRC作用通路的底物, Matsui等^[17]发现DDEF2能抑癌蛋白APC的特异结合; Coutinho-Camillo等^[18]认为DDEF2在前列腺癌中的表达模式发生改变. CD59分子是人体内重要的同源限制因子, 他能阻止补体穿膜复合体MAC在膜上的组装而保护细胞不被自身补体溶解^[19], 参与肿瘤细胞生长与凋亡^[20], 在乳腺癌^[21]、膀胱癌^[22]、口腔癌^[23]、前列腺癌^[24]等多种肿瘤中表达升高.

来自不同层面的分析都表明弱差异基因表达谱具有较高的敏感性和特异性, 在肿瘤的发生发展中具有重要的生物学功能和临床意义. 我们看到这些弱差异表达基因的表达改变导致肿瘤细胞内环境的改变, 是参与胃癌发生发展的重要因素, 所以挖掘BAGEL建立的弱差异表达基因对胃癌发生发展的研究具有重要意义.

4 参考文献

- Quackenbush J. Computational approaches to analysis of DNA microarray data. *Yearb Med Inform* 2006; 91-103 [PMID: 17051302]
- Yan H, Dobbie Z, Gruber SB, Markowitz S, Romans K, Giardiello FM, Kinzler KW, Vogelstein B. Small changes in expression affect predisposition to tumorigenesis. *Nat Genet* 2002; 30: 25-26 [PMID:

11743581]

- Zang S, Guo R, Zhang L, Lu Y. Integration of statistical inference methods and a novel control measure to improve sensitivity and specificity of data analysis in expression profiling studies. *J Biomed Inform* 2007; 40: 552-560 [PMID: 17317331]
- Tusher VG, Tibshirani R, Chu G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 5116-5121 [PMID: 11309499]
- Townsend JP. Resolution of large and small differences in gene expression using models for the Bayesian analysis of gene expression levels and spotted DNA microarrays. *BMC Bioinformatics* 2004; 5: 54 [PMID: 15128431]
- Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 14863-14868 [PMID: 9843981]
- Zeeberg BR, Qin H, Narasimhan S, Sunshine M, Cao H, Kane DW, Reimers M, Stephens RM, Bryant D, Burt SK, Elnekave E, Hari DM, Wynn TA, Cunningham-Rundles C, Stewart DM, Nelson D, Weinstein JN. High-Throughput GoMiner, an 'industrial-strength' integrative gene ontology tool for interpretation of multiple-microarray experiments, with application to studies of Common Variable Immune Deficiency (CVID). *BMC Bioinformatics* 2005; 6: 168 [PMID: 15998470]
- Sun W, Dong WW, Mao LL, Li WM, Cui JT, Xing R, Lu YY. Overexpression of p42.3 promotes cell growth and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2913-2920 [PMID: 23704824 DOI: 10.3748/wjg.v19.i19.2913]
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; 270: 467-470 [PMID: 7569999]
- Jeanmougin M, de Reynies A, Marisa L, Paccard C, Nuel G, Guedj M. Should we abandon the t-test in the analysis of gene expression microarray data: a comparison of variance modeling strategies. *PLoS One* 2010; 5: e12336 [PMID: 20838429 DOI: 10.1371/journal.pone.0012336]
- 孙伟, 高芳, 王晓龙, 王嵘, 顾存林, 沈国平, 许博林, 耿排力. 胃癌弱差异基因表达谱中TINF2基因的表达和生物学作用. *青海医学院学报* 2012; 33: 235-258
- Wang YA, Kamarova Y, Shen KC, Jiang Z, Hahn MJ, Wang Y, Brooks SC. DNA methyltransferase-3a interacts with p53 and represses p53-mediated gene expression. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 1138-1143 [PMID: 16131836]
- Li H, Rauch T, Chen ZX, Szabó PE, Riggs AD, Pfeifer GP. The histone methyltransferase SETDB1 and the DNA methyltransferase DNMT3A interact

- directly and localize to promoters silenced in cancer cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 19489-19500 [PMID: 16682412]
- 14 Zhao Z, Li C, Song Y, Wu Q, Qiao F, Fan H. Association of the DNMT3A -448A>G polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer. *Oncol Lett* 2012; 3: 450-454 [PMID: 22740930]
- 15 He S, Wang F, Yang L, Guo C, Wan R, Ke A, Xu L, Hu G, Xu X, Shen J, Wang X. Expression of DNMT1 and DNMT3a are regulated by GLI1 in human pancreatic cancer. *PLoS One* 2011; 6: e27684 [PMID: 22110720 DOI: 10.1371/journal.pone.0027684]
- 16 Wu Q, Lu S, Wang L, Hu J, Qiao F, Qiu X, Zhao C, Lao Y, Song Y, Fan H. DNMT3A rs36012910 A>G polymorphism and gastric cancer susceptibility in a Chinese population. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 10949-10955 [PMID: 23053986 DOI: 10.1007/s11033-012-1996-y]
- 17 Matsui C, Kaieda S, Ikegami T, Mimori-Kiyosue Y. Identification of a link between the SAMP repeats of adenomatous polyposis coli tumor suppressor and the Src homology 3 domain of DDEF. *J Biol Chem* 2008; 283: 33006-33020 [PMID: 18786926 DOI: 10.1074/jbc.M800420200]
- 18 Coutinho-Camillo CM, Salaorni S, Sarkis AS, Nagai MA. Differentially expressed genes in the prostate cancer cell line LNCaP after exposure to androgen and anti-androgen. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 166: 130-138 [PMID: 16631469]
- 19 Clayton A, Harris CL, Court J, Mason MD, Morgan BP. Antigen-presenting cell exosomes are protected from complement-mediated lysis by expression of CD55 and CD59. *Eur J Immunol* 2003; 33: 522-531 [PMID: 12645951]
- 20 Li B, Gao MH, Chu XM. Molecular mechanism of a novel CD59-binding peptide sp22 induced tumor cells apoptosis. *J Cell Biochem* 2012; 113: 3810-3822 [PMID: 22821302 DOI: 10.1002/jcb.24258]
- 21 Cui W, Zhao Y, Shan C, Kong G, Hu N, Zhang Y, Zhang S, Zhang W, Zhang Y, Zhang X, Ye L. HBXIP upregulates CD46, CD55 and CD59 through ERK1/2/NF- κ B signaling to protect breast cancer cells from complement attack. *FEBS Lett* 2012; 586: 766-771 [PMID: 22293503 DOI: 10.1016/j.febslet]
- 22 Varela JC, Atkinson C, Woolson R, Keane TE, Tomlinson S. Upregulated expression of complement inhibitory proteins on bladder cancer cells and anti-MUC1 antibody immune selection. *Int J Cancer* 2008; 123: 1357-1363 [PMID: 18561323 DOI: 10.1002/ijc.23676]
- 23 Ravindranath NM, Shuler C. Cell-surface density of complement restriction factors (CD46, CD55, and CD59): oral squamous cell carcinoma versus other solid tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 231-239 [PMID: 17234541]
- 24 Babiker AA, Nilsson B, Ronquist G, Carlsson L, Ekdahl KN. Transfer of functional prostatic CD59 of metastatic prostatic cancer cell origin protects cells against complement attack. *Prostate* 2005; 62: 105-114 [PMID: 15389819]

■同行评价

本文建立胃癌弱差异基因表达谱并探讨其生物学意义,研究方法先进,研究结论可靠,讨论客观,对阐明胃癌发生发展的分子机制,有重要的理论指导意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



抑癌基因p16与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系

高平, 高亚杰

■背景资料

在我国胃癌的发病率居所有恶性肿瘤之首, 每年有17万人死于胃癌, 其中有95%患者病理类型为胃腺癌。胃腺癌的发病人分布在各个年龄段, 且晚期为腺癌患者中有70%年龄>50岁。胃腺癌晚期患者主要采用化疗药物进行治疗, 其目的是以控制疾病进展, 延长生存期, 因此腺癌晚期患者化疗预后的研究成为了临床医生研究的重要领域。

高平, 高亚杰, 大连医科大学附属第一医院肿瘤科 辽宁省大连市 116000

高平, 副教授, 主要从事肿瘤化疗的研究。

作者贡献分布: 此文章高亚杰负责实验设计、实验安排及数据分析; 高平负责实验、统计学分析及论文撰写。

通讯作者: 高亚杰, 教授, 116000, 辽宁省大连市沙河口区联合路193号, 大连医科大学附属第一医院肿瘤科。

gaoyajie@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-01

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy

Ping Gao, Ya-Jie Gao

Ping Gao, Ya-Jie Gao, Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ya-Jie Gao, Professor, Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 193 Lianhe Road, Shahekou District, Dalian 116000, Liaoning Province, China. gaoyajie@yahoo.com.cn

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-01

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between p16 expression and the 2- and 5-year survival rates in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy.

METHODS: Forty-seven patients with advanced gastric adenocarcinoma, who received XELOX (oxaliplatin + capecitabine) treatment from March 2006 to February 2007, were included in the study. Twenty-five healthy volunteers were used as controls. Immunohistochemistry was performed to detect p16 expression in gastric mucosal epithelial tissues. The 2- and 5-year survival rates were compared between patients low p16 expression and those with normal expression.

RESULTS: The positive rate of p16 expression

was significantly lower in the observation than in the control group ($17.4\% \pm 3.6\%$ vs $43.7\% \pm 17.4\%$, $P < 0.05$). There were 19 cases (40.43%) who had normal p16 expression, and 28 cases (59.57%) had low expression. The 2- and 5-year survival rates were significantly lower in patients with low p16 expression than in those with normal expression (31.58% vs 64.29% , 21.05% vs 50% , both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Patients with low p16 expression have poor prognosis after XELOX chemotherapy, and p16 expression can be used to predict prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric adenocarcinoma; P16; Oxaliplatin; Capecitabine

Gao P, Gao YJ. Relationship between p16 protein expression and prognosis in patients with gastric adenocarcinoma treated with XELOX chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2724-2727
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2724.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2724>

摘要

目的: 探讨病灶组织抑癌基因p16的表达与胃腺癌患者化疗后2年和5年生存率之间的关系。

方法: 选择2004-03/2007-02来我院接受治疗的胃腺癌晚期患者47例作为观察组, 均接受XELOX(奥沙利铂+希罗达)方案化疗。选择25例健康志愿者作为对照组。采用免疫组织化学检测观察组和对照组患者胃黏膜组织上皮组织内p16表达情况, 并比较观察组病灶组织p16低表达和正常表达组2年和5年生存率。

结果: 观察组p16阳性率为 $17.4\% \pm 3.6\%$, 显著低于对照组($P < 0.05$)。p16正常表达组有19例(40.43%), 低表达组有28例(59.57%)。p16低表达组16例患者经化疗后2年生存6例(31.58%), 5年生存4例(21.05%), 均显著低于p16正常表

■同行评议者

樊红, 教授, 东南大学医学院, 发育与疾病相关基因教育部重点实验室, 东南大学基础医学院, 遗传与发育生物学系

达组($P<0.05$).

结论: p16过低表达胃腺癌患者化疗预后较差, 且p16基因表达可以作为预测胃腺癌XELOX方案化疗预后.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃腺癌; p16; 奥沙利铂; 卡培他滨

核心提示: 本文主要探讨胃腺癌患者病灶组织p16基因表达与XELOX方案化疗后2年和5年生存率之间的关系, 以评价p16在胃腺癌化疗预后中的临床价值. 首先比较了观察组和对照组p16基因的表达, 结果表明胃腺癌患者病灶中p16基因会过低表达; 其次统计了观察组中不同p16阳性率范围中患者的例数, 并选择20%阳性率为p16表达的阈值; 最后比较<20%的患者和>20%患者2年和5年的生存情况, 结果表明p16阳性率<20%的患者人群中2年生存率和5年生存率均显著高于p16阳性率>20%的患者人群.

高平, 高亚杰. 抑癌基因p16与胃腺癌患者XELOX方案化疗预后的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2724-2727 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2724.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2724>

0 引言

在我国胃癌的发病率居所有恶性肿瘤之首, 每年有17万人死于胃癌, 其中有95%患者病理类型为胃腺癌^[1,2]. 胃腺癌的发病人群分布在各个年龄段, 且晚期为腺癌患者中有70%年龄>50岁. 胃腺癌晚期患者主要采用化疗药物进行治疗, 其目的是以控制疾病进展, 延长生存期, 因此腺癌晚期患者化疗预后的研究成为了临床医生研究的重要领域. 抑癌基因、癌基因和其他基因表达差异与肿瘤化疗等治疗疗效和预后的关系的研究报道很多, 也成为近几年肿瘤治疗中的研究重点. 本文主要探讨病灶组织抑癌基因p16表达在胃腺癌化疗预后中的作用, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2004-03/2007-02来我院接受治疗的晚期胃腺癌患者47例作为观察组, 均接受XELOX方案化疗. 另外选择25例健康志愿者作为对照组, 未接受任何治疗. 其中观察组男29例, 女18例, 平均年龄为54.2岁±12.3岁; 对照组男16例, 女9例, 平均年龄为53.7岁±13.9岁. 两组患者性别比和年龄无显著统计学差异($\chi^2 =$

0.037, $P = 0.848$; $t = 0.15$, $P = 0.881$), 两组具有可比性. 患者具体入组标准: (1)所有患者经病理证实为晚期胃腺癌; (2)治疗前心电图正常, 白细胞 $>3.5 \times 10^9/L$, 中性粒细胞 $>1.5 \times 10^9/L$, 血小板 $>100 \times 10^9/L$, 肾功能肌酐<上限正常值1.5倍, 无化疗禁忌证; (3)卡氏(KPS)评分 ≥ 70 分, 预计生存时间 ≥ 6 mo; (4)患者或家属签署治疗知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 化疗: XELOX方案具体用药为: 奥沙利铂(商品名: 艾恒, 生产厂家: 江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号: H20000337)130 mg/m²加入5%葡萄糖注射液250 mL中, 静脉滴注180 min, d1, 每3 wk用1次. 卡培他滨(商品名: 希罗达, 生产厂家: 上海罗氏制药有限公司, 批号: H20073024)1000 mg/m², p.o, bid, d1-14, 每3 wk用1次. 每位患者化疗4-6个周期.

1.2.2 免疫组织化学: p16 rabbit polyclonal IgG均购于美国Santa Cruz(货号为: sc-468), 免疫组织化学SABC试剂盒和DAB显色试剂盒均购自上海蓝基生物公司. 分别检测每位患者胃癌病灶组织和周围正常组织, 2%多聚甲醛固定后, 石蜡包埋并分别隔100 μ m深度的层面上连续4 μ m切片. 按照SABC试剂盒要求进行操作, 检测标本中p16的表达情况. p16基因阳性表达主要表现为细胞核呈棕色及黄褐色; 偶尔在细胞质呈黄褐色(图1). 采用双盲法, 由两名有经验的病理诊断医师同时进行. 应用Image Pro Plus 6.0图像处理与分析系统, 统计切片视野中阳性细胞和总细胞数, 并按照阳性率 = 阳性细胞/总细胞 $\times 100\%$, 得出每位患者组织的阳性率.

1.2.3 疗效评价: 采用实体肿瘤评价标准^[3]对化疗疗效进行评价, 并计算p16低表达组和p16正常表达组2年和5年生存率.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析. 所有计量资料采用 t 检验分析, 所有计数资料采用 χ^2 检验分析, 结果以 χ^2 和 P 表示. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃腺癌患者病灶组织p16的表达 胃腺癌患者病灶组织p16的阳性率观察组为17.4%±3.6%, 显著低于对照组(43.7%±17.4%)($t = -6.57$, $P<0.05$). 观察组p16阳性率分布情况结果如表1所示, 以20%为阈值, >20%为正常表达组, 低于20%为低表达组. 正常表达组有19例(40.43%),

■研发前沿

抑癌基因、癌基因和其他基因表达差异与肿瘤化疗等治疗疗效和预后的关系的研究报道很多, 也成为近几年肿瘤治疗中的研究重点.

■相关报道

江洪等发现Ⅲ型 β 微管蛋白(β -tubulin-III)mRNA表达与Ⅱ期非小细胞肺癌对诺维本+顺铂方案化疗敏感度的影响较大.

■创新盘点

本文的结果证明了p16过低表达会增加胃腺癌患者化疗后的死亡风险,且数据表明p16可较好的预测患者化疗预后。

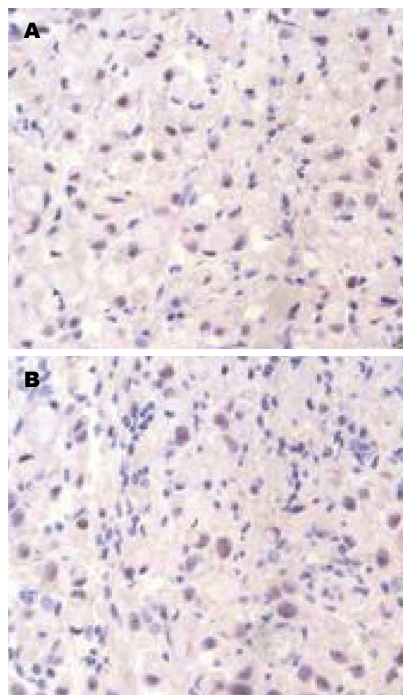


图1 p16在胃黏膜上皮组织中的表达情况($\times 40$)。A: 观察组; B: 对照组。

低表达组有28例(59.57%)。

2.2 病灶组织p16基因表达与胃腺癌化疗预后的关系 p16低表达组16例患者经化疗后2年生存6例(31.58%), 5年生存4例(21.05%), 均显著低于p16正常表达组($P<0.05$, 表2)。

3 讨论

本文主要探讨胃腺癌患者病灶组织p16基因表达与XELOX方案化疗后2年和5年生存率之间的关系,以评价p16在胃腺癌化疗预后中的临床价值。首先比较了观察组和对照组p16基因的表达,结果表明胃腺癌患者病灶中p16基因会过低表达;其次统计了观察组中不同p16阳性率范围中患者的例数,并选择20%阳性率为p16表达的阈值;最后比较<20%的患者和>20%患者2年和5年的生存情况,结果表明p16阳性率<20%的患者人群中2年生存率和5年生存率均显著高于p16阳性率>20%的患者人群。上述结果均表明,p16抑癌基因的过低表达的患者化疗后预后较差,并且p16基因的表达可以作为预测胃腺癌化疗预后的重要指标。

肿瘤治疗效果的个体差异性可能跟癌基因、抑癌基因或其他基因表达相关。江洪等^[4]发现III型 β 微管蛋白(β -tubulin-III)mRNA表达与II期非小细胞肺癌对诺维本+顺铂方案化疗敏感度的影响较大。陈俭云等^[5]通过RNAi干扰技术

表1 观察组p16阳性率分布情况

p16阳性率范围	n	比例(%)
0%–10%	3	6.38
10%–20%	25	53.19
20%–30%	17	36.17
30%–40%	2	4.26

表2 病灶组织p16基因表达与胃腺癌化疗预后的关系 n(%)

	n	2年生存率	5年生存率
p16低表达组	19	6(31.58)	4(21.05)
p16正常表达组	28	18(64.29)	14(50.00)
χ^2		4.846	4.014
P值		0.028	0.045

干扰了survivin表达后增强了胰腺癌对厄洛替尼敏感性。不仅如此,GSTT1、GSTM1、MDR1基因多态性与白血病治疗^[6],FTO基因表达与乳腺癌的治疗^[7]等均被证明是基因表达与肿瘤化疗治疗的有力证据。除此之外,p16抑癌基因与肿瘤治疗之间的关系也成为近几年的研究热点。

p16是细胞周期中的重要基因,参与调控细胞周期、细胞增殖和分裂。研究表明50%的肿瘤细胞中p16基因均会缺失或突变而过低表达,目前已经在肺癌^[8]、乳腺癌^[9]、胃癌^[10]、肾癌^[11]等肿瘤细胞中证实了上述结论,因此该基因可以作为预测肿瘤发生的重要指标。另外,p16还逐步被应用于预测肿瘤疾病治疗预后。例如张海燕等^[12]在6-24 mo随访期间发现p16阴性CIN II宫颈癌患者可进展为CIN III,且p16阳性患者病情无明显发展。在乳腺癌的预后中也类似,冯云等^[13]发现p16阳性患者淋巴结无明显转移,而阴性患者淋巴结会显著转移。同样,在大肠癌的高分化组中p16的表达量也最低,也说明p16可以作为大肠癌分化预后的重要指标^[14]。以上有关p16在疾病预后中的应用研究均局限于探讨p16与疾病进展关系研究,而本文是探讨p16表达与胃腺癌化疗生存预后的关系,马炬明等^[15]的结果表明胃癌病灶组织p16阴性时化疗后无瘤生存期明显缩短,从而提示我们p16表达可能会与胃癌化疗后生存相关。本文的结果证明了p16过低表达会增加胃腺癌患者化疗后的死亡风险,且数据表明p16可较好的预测患者化疗预后。

虽然结果表明了p16在胃腺癌患者XELOX

方案化疗预后中的临床价值, 但本文的病例样本数较少, 需要增加样本数进行深入分析. 另外, 本文仅探讨p16与XELOX方案化疗预后的关系, 而p16是否在胃腺癌经其他化疗方案或治疗方法中具有预后价值, 还需要进一步去收集临床数据进行分析. 虽然如此, 本文可表明p16可能是预测胃腺癌XELOX方案化疗预后的重要指标.

4 参考文献

- 1 Huang YM, Hsieh TY, Chen JR, Chien HP, Chang PH, Wang CH, Huang JS. Gastric and colonic metastases from primary lung adenocarcinoma: A case report and review of the literature. *Oncol Lett* 2012; 4: 517-520 [PMID: 22970049]
- 2 Vial M, Grande L, Pera M. Epidemiology of adenocarcinoma of the esophagus, gastric cardia, and upper gastric third. *Recent Results Cancer Res* 2010; 182: 1-17 [PMID: 20676867 DOI: 10.1007/978-3-540-70579-6_1]
- 3 柳影, 程颖. 实体肿瘤疗效评价标准的研究. *实用肿瘤学杂志* 2004; 18: 149-152
- 4 江洪, 周星明, 王小红, 苏丹, 陶开义. β -tubulin-III 基因表达与 II 期非小细胞肺癌患者化疗敏感度的关系. *肿瘤防治研究* 2013; 40: 568-571
- 5 陈俭云, 王正文, 崔海宁, 罗健. 靶向RNAi抑制survivin基因增强胰腺癌对厄洛替尼化疗敏感性的实验研究. *海南医学院学报* 2013; 19: 1157
- 6 许静, 徐康康, 李庆平, 王斌, 顾海娟, 李天媛, 廖清船. GSTT1、GSTM1基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病早期治疗反应及化疗不良反应的关系. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2010; 30: 832-836
- 7 马英路, 袁凯, 张坤, 张桂, 郝广旭, 孟志刚, 付荣湛. FTO基因在乳腺癌组织的表达及新辅助化疗对其表达的影响. *中国普通外科杂志* 2012; 15: 1385-1388
- 8 刘淼, 王丹, 李伟, 索冰, 程松. EGFR、HER2、c-jun、c-fos、P21、P16、P53在非小细胞肺癌中的表达及临床病理特征. *黑龙江医学* 2012; 36: 643-645, 649
- 9 杨洋, 郑荣生. Chk1和p16在三阴性乳腺癌中的表达及相关性分析. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 126-130
- 10 朱兴国, 孟翔凌, 王成宏, 王栋, 胡闻, 陈晓宇. p16蛋白、RUNX3蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义. *安徽医科大学学报* 2010; 45: 93-95
- 11 张涛, 罗志刚. 肾癌的基因研究进展. *当代医学* 2011; 17: 25-26
- 12 张海燕, 欧雪峰, 唐华贵, 王辉, 彭新萍, 吴庆萍. HPV L1衣壳蛋白、P16在宫颈鳞状上皮内病变组织中的表达及其意义. *海南医学院学报* 2012; 18: 607-609
- 13 冯云, 张练, 李振宇, 周会行, 李军红. Bmi-1和P16蛋白在乳腺癌组织中的表达及意义. *广东医学* 2012; 33: 2616-2618
- 14 冀建波. 大肠腺癌中E2F1和p16蛋白的表达与预后的关系. *山西医药杂志* 2012; 41: 342-343
- 15 马炬明, 施正杰, 陈磊, 胡慧珍, 王伟国, 苏长青, 杨昌平. 抑癌基因p16的表达与胃癌细胞增殖及胃癌患者预后的关系. *中华肿瘤杂志* 2012; 34: 21-25

■同行评价

本文方法设计科学、结果可靠, 结论表明p16可能是预测胃腺癌XELOX方案化疗预后的重要指标, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利



肝移植受者早期EC-MPS药代动力学的临床特点

李鹏飞, 谢俊杰, 陈冰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏

■背景资料

麦考酚钠肠溶片(EC-MPS)作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域。EC-MPS是麦考酚酸(MPA)的钠盐, 霉酚酸酯在体内通过转化为霉酚酸而发挥免疫抑制活性, MPA对淋巴细胞IMPDH的抑制导致了细胞内鸟苷酸的衰竭, 抑制DNA的合成, 限制淋巴细胞的增殖。肝移植受者口服霉酚酸酯后血清对CEM细胞的增殖产生显著抑制作用, 其作用和霉酚酸浓度呈显著相关。

李鹏飞, 谢俊杰, 金佳斌, 邓侠兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏, 上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心 上海市200025

陈冰, 上海交通大学医学院附属瑞金医院药剂科 上海市200025

李鹏飞, 硕士研究生, 主要从事肝移植受者术后早期米芙药代动力学的研究。

作者贡献分布: 李鹏飞与谢俊杰对此文所作贡献均等; 此课题由李鹏飞、谢俊杰、陈冰、金佳斌、邓侠兴、陈皓、沈柏用及彭承宏设计; 研究过程由李鹏飞、谢俊杰、金佳斌、邓侠兴、陈皓、沈柏用及彭承宏操作完成。

通讯作者: 陈皓, 主任医师, 200025, 上海市瑞金二路197号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心。

haochendr@126.com

收稿日期: 2013-07-29 修回日期: 2013-09-06

接受日期: 2013-09-07 在线出版日期: 2013-09-18

Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation

Peng-Fei Li, Jun- Jie Xie, Bing Chen, Jia-Bin Jin, Xia-Xing Deng, Hao Chen, Bo-Yong Shen, Cheng-Hong Peng

Peng-Fei Li, Jun- Jie Xie, Jia-Bin Jin, Xia-Xing Deng, Hao Chen, Bo-Yong Shen, Cheng-Hong Peng, Organ Transplantation Center, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 20025, China

Bing Chen, Department of Pharmacy, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 20025, China

Correspondence to: Hao Chen, Chief Physician, Organ Transplantation Center, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 197 Ruijin Second Road, Shanghai 20025, China. haochendr@126.com

Received: 2013-07-29 Revised: 2013-09-06

Accepted: 2013-09-07 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS) in liver transplant recipients early after transplantation.

METHODS: Twenty-five liver transplant recipient received tacrolimus and EC-MPS (720 mg, twice daily). Mycophenolic acid (MPA) concentrations were measured by high performance

liquid chromatography (HPLC) before dosing (C_{0h}) and at 0.5 h ($C_{0.5h}$), 1 h (C_{1h}), 1.5 h ($C_{1.5h}$), 2 h (C_{2h}), 4 h (C_{4h}), 6 h (C_{6h}), 8 h (C_{8h}), 10 h (C_{10h}), and 12 h (C_{12h}) after dosing between days 7 and 21 post-operatively. Meanwhile, trough concentration (C_{0h}) of FK506, hepatic and renal function and blood cell counts were also measured. The Win-Nonlin software was used to calculate the area of concentration-time under the curve (AUC).

RESULTS: The average MPA-AUC_{0-12h} was 40.36 ($\mu\text{g}\cdot\text{h}$)/mL \pm 17.20 ($\mu\text{g}\cdot\text{h}$)/mL. The Cmax was 17.037 mg/L \pm 7.632 mg/L, and the Tmax was 3.06 h \pm 1.50 h. Individual concentrations of MPA- C_{0h} - C_{12h} were not significantly related with MPA-AUC_{0-12h} ($r^2 < 0.75$). FK506- C_{0h} , serum albumin level and Cr-CL were not significantly correlated with MPA-AUC_{0-12h} (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: The variability of MPA-AUC_{0-12h} is significant in liver transplant recipients early after transplantation. Single time-point MPA concentration can not reflect MPA-AUC_{0-12h} effectively. MPA-AUC_{0-12h} is less influenced by FK506 concentration, serum albumin and creatinine clearance.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Enteric-coated mycophenolate sodium; Mycophenolic acid; Pharmacokinetics; Liver transplantation

Li PF, Xie JJ, Chen B, Jin JB, Deng XX, Chen H, Shen BY, Peng CH. Pharmacokinetic characteristics of enteric-coated mycophenolate sodium in liver transplant recipients early after transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2728-2733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2728.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2728>

摘要

目的: 观察肝移植术后早期麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS)药代动力学特点。

方法: 25例肝移植受者术后联合应用他克莫

■同行评议者

胡安斌, 副教授, 副主任医师, 中山大学附属第一医院普外科-器官移植科

司Tacrolimus(FK506)和EC-MPS治疗. EC-MPS口服剂量为720 mg, 2次/d. 术后7、21 d分别在服药前及服药后1、1.5、2、2.5、3、4、6、8和12 h取外周血, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定血浆麦考酚酸(mycophenolic acid, MPA)浓度. WinNonlin软件计算MPA药时曲线下面积(area of concentration-time under the curve, AUC). 同时测定FK506谷浓度(FK506- C_{0h})及肝、肾功能和血细胞计数.

结果: 合并43套数据, MPA-AUC_{0-12 h}平均为40.36 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}$)/mL \pm 17.20 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}$)/mL, C_{max} 为16.66 $\mu\text{g}/\text{mL} \pm 9.73 \mu\text{g}/\text{mL}$, T_{max} 为3.14 h \pm 1.78 h. MPA- C_{0h} - C_{12h} 与MPA-AUC_{0-12 h}的相关性不显著($r^2 < 0.75$). MPA-AUC_{0-12 h}与FK506- C_{0h} 、血清白蛋白水平及肌酐清除率显著相关性($P > 0.05$).

结论: 肝移植后早期患者服用EC-MPS MPA-AUC_{0-12 h}个体间差异很大; 单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-AUC_{0-12 h}; FK506- C_{0h} 、血清白蛋白水平及肌酐清除率不影响MPA-AUC_{0-12 h}.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 米芙; 霉酚酸; 药物代谢动力学; 肝移植

核心提示: 本研究观察25例肝移植患者移植后口服麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS)早期麦考酚酸药代动力学特点, 了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点, 希望更好地为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助.

李鹏飞, 谢俊杰, 陈冰, 金佳斌, 邓快兴, 陈皓, 沈柏用, 彭承宏. 肝移植受者早期EC-MPS药代动力学临床特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2728-2733 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2728.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2728>

0 前言

麦考酚钠肠溶片(enteric-coated mycophenolate sodium, EC-MPS), 商品名为米芙, 作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域, 逐步成为器官移植免疫抑制的一线药物. EC-MPS是麦考酚酸(mycophenolic acid, MPA)的钠盐. MPA是一种选择性、非竞争性、可逆的次黄嘌呤单磷酸脱氢酶(hypoxanthine nucleotide dehydrogenase, IMPDH)抑制剂, 能够抑制鸟嘌呤核苷酸的经典合成途径, 阻止T淋巴细胞

分裂及B细胞抗体形成. 本研究将观察25例肝移植患者移植后口服EC-MPS早期MPA药代动力学特点.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-05/2011-07在瑞金医院器官移植中心接受肝移植手术者25例. 乙型肝炎后肝硬化伴肝癌12例, 乙型肝炎后肝硬化7例, 重症肝炎肝硬化3例, 乙型肝炎后肝硬化肝豆状核变性2例, 多囊肝1例. 平均年龄46.96岁 \pm 12.69岁; 其中男20例, 女5例, 全部患者知情同意.

1.2 方法

1.2.1 免疫抑制剂应用方案: 25例肝移植受者均采用三联免疫抑制方案EC-MPS+他克莫司FK506+激素治疗. 术前6 h口服EC-MPS 720 mg. 术后每隔12 h口服EC-MPS 720 mg, 2次/d; 术后第2天起开始口服FK506, 同时监测FK506血药谷浓度(FK506- C_{0h})以调整FK506口服剂量, 使其血药浓度维持在5-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 其中15例患者术中及术后1 d静脉推注甲泼尼龙(methyl prednisolone, MP)500 mg, 以后停用. 10例患者, 术后第1-7天MP使用量从240 mg减至20 mg, 以后改用泼尼松20 mg口服.

1.2.2 检测指标: 患者于术后第7、21天采集外周静脉血, 进行下列检测: (1)血常规: 白细胞(white blood cell, WBC)、红细胞(red blood cell, RBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)和血小板(platelet, PLT); (2)肝、肾功能、血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、血清天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、血清谷氨转氨酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)和血清肌酐(creatinine, Cr); (3)FK506谷浓度(FK506- C_{0h}). 观测指标: WBC $< 4 \times 10^9/\text{L}$ 、Hb $< 110 \text{ g}/\text{L}$ 、PLT $< 100 \times 10^9/\text{L}$ 、ALT $> 64 \text{ IU}/\text{L}$ 、TBIL $> 24 \text{ mmol}/\text{L}$ 、ALB $< 35 \text{ g}/\text{L}$ 、Cr $> 115 \text{ mmol}/\text{L}$ 视为异常.

1.2.3 MPA浓度测定方法: 于服药前及服药后0.5、1、1.5、2、4、6、8、10和12 h分别抽取外周血3 mL, 以肝素抗凝, 置4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存. 取血浆样品0.2 mL, 置于5 mL尖底试管中, 加入内标酞胺咪唑溶液4 μL , 再加入2.5倍体积量的乙腈, 漩涡震荡30 s, 于4000 r/min离心10 min. 定量吸取上清液200 μL 进行测定. 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)

■ 研发前沿

本研究MPA- C_{0h} - C_{12h} 与MPA-AUC_{0-12 h}相关性均很差, r^2 均 < 0.75 , MPA- C_{8h} 的复相关系数最高($r^2 = 0.19$); 在统计学上, MPA单个时间点浓度与MPA-AUC_{0-12 h}之间的复相关系数(r^2)应超过0.75以上才具有应用价值, 本研究 r^2 均 < 0.75 , 所以单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-AUC_{0-12 h}.

■ 相关报道

Kobayashi等证实MPAG的胆汁排泄必须依赖多药耐药相关蛋白2(MRP2)才能完成。MRP2优先选择MPAG,当胆汁进入小肠,MPAG在微生物的作用下被降解为MPA并被重新吸收进入体循环,此过程即为MPA的肠肝循环。

表 1 EC-MPS MPA药代动力学参数

检测项目	术后7 d	术后21 d	所有43套数据
AUC($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)	41.13 \pm 15.17	40.23 \pm 20.24	40.360 \pm 17.200
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	17.04 \pm 7.63	16.13 \pm 12.30	16.657 \pm 9.732
T_{max} (h)	3.25 \pm 2.16	3.14 \pm 1.78	3.140 \pm 1.781

EC-MPS: 米芙; MPA: 麦考酚酸; AUC: 药-时曲线下面积。

表 2 MPA- $C_{0\text{h}}$ - $C_{12\text{h}}$ 与MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 的相关性

	$C_{0\text{h}}$	$C_{1\text{h}}$	$C_{1.5\text{h}}$	$C_{2\text{h}}$	$C_{2.5\text{h}}$	$C_{3\text{h}}$	$C_{4\text{h}}$	$C_{6\text{h}}$	$C_{8\text{h}}$	$C_{12\text{h}}$
r^2	0.001	0.001	0.005	0.119	0.04	0.053	0.008	0.113	0.199	0.01
P 值	0.883	0.886	0.663	0.024	0.196	0.137	0.159	0.028	0.003	0.524

MPA: 麦考酚酸; AUC: 药-时曲线下面积。

测定患者各时段的血浆总MPA浓度,分别标为MPA- $C_{0-12\text{h}}$ 并计算其药时曲线下面积(area of concentration-time under the curve, AUC)。探测的紫外线波长为254 nm,血浆中MPA的最低检测浓度为0.25 ng/mL。

1.2.4 MPA药代动力学参数计算: 采用WinNonlin Professional 2.1药理学专用软件计算MPA药代动力学参数,MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 采用梯形法则计算。

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件处理数据。计量资料用mean \pm SD表示。同类数据间差异的比较采用独立样本 t 检验,不同变量间比较采用Pearson相关分析和线性回归分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MPA的药代动力学 合并43套数据,MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 为40.36 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$) \pm 17.20 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$), C_{max} 为16.66 $\mu\text{g}/\text{mL}$ \pm 9.73 $\mu\text{g}/\text{mL}$, T_{max} 为3.14 h \pm 1.78 h。药物半衰期平均为3.25 h \pm 2.52 h。术后7 d 25套及术后21 d 18套MPA药代动力学数据如表1所示。术后1 mo内25例患者中3例发生白细胞减少、3例发生感染、1例出现恶心、呕吐及腹泻,没有患者出现急性排斥反应。

2.2 MPA- $C_{0\text{h}}$ - $C_{12\text{h}}$ 与MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 的相关性 合计43套数据,MPA- $C_{0\text{h}}$ - $C_{12\text{h}}$ 与MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 相关性均很差, r^2 均小于0.75(表2)。

2.3 MPA的暴露 参照欧美移植人群MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 最佳治疗窗30-60 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)目标暴露范围。本研究43套数据中MPA低暴露11例(25.58%),目标暴露7例(58.14%),高暴露组7例(16.28%)。

低暴露组、目标暴露组、高暴露组的平均MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 分别为: 20.94 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$) \pm 6.66 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)、40.68 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$) \pm 8.14 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)和69.74 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$) \pm 5.82 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)。

2.4 检验分析 合计43套数据,肝、肾功能、内生肌酐清除率和血WBC计数异常组与正常组相比MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 无显著差异($P > 0.05$)(表3)。MPA-AUC $_{0-12\text{h}}$ 与FK506- $C_{0\text{h}}$ 亦无显著相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

EC-MPS作为免疫抑制剂广泛应用于器官移植领域。EC-MPS是MPA的钠盐,霉酚酸酯在体内通过转化为霉酚酸而发挥免疫抑制活性,MPA对淋巴细胞IMPDH的抑制导致了细胞内鸟苷酸的衰竭,抑制DNA的合成,限制淋巴细胞的增殖^[1]。肝移植受者口服霉酚酸酯后血清对白血病细胞(CEM)的增殖产生显著抑制作用,其作用和霉酚酸浓度呈显著负相关^[2]。EC-MPS在上消化道、血液、肝脏被酯酶水解成活性药物MPA,MPA在尿苷二磷酸-葡萄糖醛酸酶作用下变为没有活性的酚醛葡萄糖苷酸(mycophenolic acid glucuronide, MPAG),MPAG从尿液排出^[3,4]。Kobayashi等^[5]证实MPAG的胆汁排泄必须依赖多药耐药相关蛋白2(multi-drug resistance associated proteins 2, MRP2)才能完成,MRP2优先选择MPAG,当胆汁进入小肠,MPAG在微生物的作用下被降解为MPA并被重新吸收进入体循环,此过程即为MPA的肠肝循环(enterohepatic circulation, EHC)。IMPDH次黄嘌呤单核苷酸脱氢酶活性的抑制作用被认为是MPA表达的一个

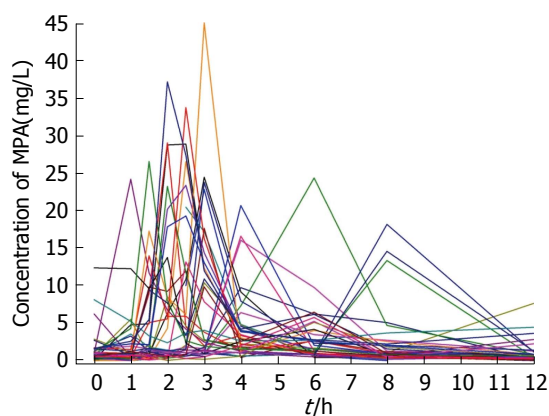


图1 EC-MPS MPA浓度的个体差异。

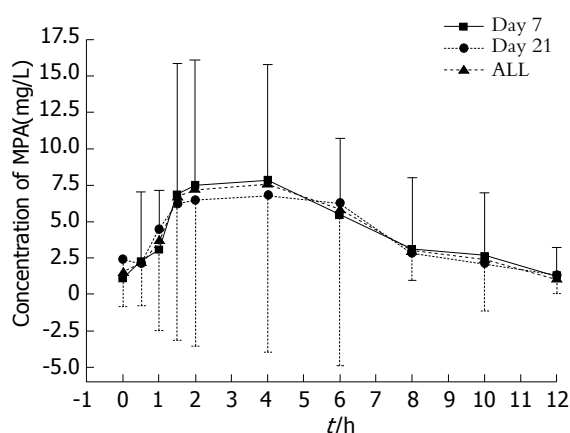


图2 EC-MPS MPA药代动力学参数。

很好的药效学指标。Bremer等^[6]指出MPA的暴露引起CD4⁺细胞和全血 $IMPDI$ 和 $IMPDIH2$ 基因表达减少。Glander等^[7]对EC-MPS标准剂量1440 mg/d组 vs 强化剂量组2880 mg/d进行对比,发现强化剂量组在移植后3 d次黄嘌呤单磷酸脱氢酶活性较标准剂量组明显降低,血液系统不良事件(adverse events, AEs)和感染不良反应在2组剂量组中发生比类似,而胃肠道AEs在强化剂量组中发生率较高。de Winter等^[8]报道EC-MPS在模拟胃pH的试管中不吸收,而在模拟小肠pH值试管中高度溶解。Enteric-coated耐酸,药物到达小肠才被吸收,从而改善了胃肠道不良反应^[9,10]。Reyes等^[11]做过胃肠道症状评估量表(gastrointestinal symptom rating scale, GSRS)调查问卷,用EC-MPS代替MMF后,GSRS得分有一个显著的改进。

本研究EC-MPS的第二个药时高峰不明显,与Qiu等^[12]报道10例肾移植患者每天服用1080 mg EC-MPS(分2次)没有表现出由于肝肠循环而形成的第二个药时高峰的结论基本一致。本研究药时曲线下面积范围在8.5-75.5

表3 肝肾功能、WBC与MPA-AUC_{0-12 h}的相关性

检测项目	<i>n</i>	MPA-AUC _{0-12 h} [(μg·h)/mL]	<i>P</i> 值
ALT(IU/L)			0.11
>64	26	40.80 ± 16.95	
<64	17	35.09 ± 16.71	
AST(IU/L)			0.87
>42	10	39.54 ± 17.24	
<42	33	40.61 ± 17.45	
AKP(IU/L)			0.42
>64	31	41.71 ± 15.65	
<64	12	36.88 ± 21.07	
GGT(IU/L)			0.34
>64	30	42.03 ± 16.51	
<64	13	36.52 ± 18.83	
ALB(g/L)			0.34
>35	31	41.94 ± 18.22	
<35	12	36.28 ± 14.12	
TBIL(mmol/L)			0.46
>24	34	39.35 ± 17.23	
<24	9	44.19 ± 15.57	
DBIL(IU/L)			0.46
>6.8	34	39.35 ± 17.23	
<6.8	9	44.19 ± 17.57	
Ccr(IU/L)			0.91
>120	17	40.00 ± 16.02	
<120	26	40.59 ± 18.25	
WBC(× 10 ⁹ /L)			0.13
>4	15	34.87 ± 14.31	
<4	28	43.30 ± 18.13	

ALT: 血清丙氨酸转氨酶; AST: 血清天冬氨酸转氨酶; AKP: 血清碱性磷酸酶; GGT: 血清谷氨转氨酶; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素; Ccr: 内生肌酐清除率; WBC: 白细胞。

(μg·h)/mL之间, 平均40.3 (μg·h)/mL ± 17.2 (μg·h)/mL, 最大浓度 C_{max} 为16.6 μg/mL ± 9.7 μg/mL, 43套数据中65%在其范围内; 达峰时间为 T_{max} 均值为3.1 h ± 1.7 h; T-Half为3.2 h ± 2.5 h。EC-MPS MPA浓度的个体差异(图1); EC-MPS MPA药代动力学参数(图2)。Perry等^[13]研究结果显示21例肝移植患者每天服用EC-MPS单剂量720 mg, MPA-AUC在17.3-90 (μg·h)/mL之间, 平均45.3 (μg·h)/mL ± 23.1 (μg·h)/mL; 最大浓度 C_{max} 为28.4 μg/mL ± 16.1 μg/mL; T_{max} 为2.4 h ± 1.1 h; T-Half为5.3 h ± 4.3 h; Sommerer等^[14]研究结果显示57例肾移植患者每天服用EC-MPS 1440 mg(分2次), MPA-AUC在7-130 (μg·h)/mL之间, 平均38 (μg·h)/mL, 最大浓度 C_{max} 为12 mg/L; T_{max} 为3.0 h。Ettenger等^[15]研究结果中显示25例肾移植患者每天服用EC-MPS 720 mg(分2次)T-Half为8 h。因此, 移植受者MPA药时曲线各家报道基本一致, 但MPA-

同行评价

本研究通过数据分析逐步了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点, 为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助。

AUC_{0-12 h}个体间变化很大。

MPA的暴露不受其他免疫抑制剂及肝、肾功能异常的影响;白蛋白、肌酐、肌酐清除率不影响MPA-AUC_{0-12 h};血清白蛋白、肌酐清除率不影响MPA清除率。合计43套数据,肝、肾功能、肌酐清除率(Ccr)和血WBC计数异常组与正常组相比MPA-AUC_{0-12 h}无显著差异($P>0.05$)。MPA-AUC_{0-12 h}与FK506-C_{0 h}、白蛋白、肌酐、肌酐清除率无显著相关性($P>0.05$)。同时MPA清除率与血清白蛋白、肌酐清除率亦无显著相关性($P>0.05$)。Stracke等研究结果中显示24例肾移植患者每天服用EC-MPS 720 mg血浆白蛋白浓度与EC-MPS MPA-AUC_{0-12 h}没有显著相关性,与本研究结果基本一致^[16]。

本研究MPA-C_{0 h}-C_{12 h}与MPA-AUC_{0-12 h}相关性均很差, r^2 均小于0.75,MPA-C_{8 h}的复相关系数最高($r^2 = 0.19$);在统计学上,MPA单个时间点浓度与MPA-AUC_{0-12 h}之间的复相关系数(r^2)应超过0.75以上才具有应用价值,本研究 r^2 均小于0.75,所以单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-AUC_{0-12 h}。Perry等研究结果显示21例肝移植患者每天服用EC-MPS单剂量720 mg MPA-C_{5 h}的复相关系数最高($r^2 = 0.66$)^[14]。肝移植术后早期移植受者EC-MPS MPA-AUC_{0-12 h}个体差异很大;单个时间点MPA浓度不能有效反映MPA-AUC_{0-12 h}的变化。我们通过上述数据分析逐步了解在肝移植患者中EC-MPS药代动力学特点,希望更好的为肝移植患者术后长期生存及临床指导用药带来帮助。

4 参考文献

- Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005; 80: S181-S190 [PMID: 16251851 DOI: 10.1097/01.tp.0000186390.10150.66]
- 张贵阳, 施敏敏, 张伟霞, 顾志冬, 茅华荣, 陈皓. 霉酚酸在肝移植受者的药代动力学与药效学相关性研究. *中国临床药理学杂志* 2010; 26: 4
- Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46: 13-58 [PMID: 17201457 DOI: 10.2165/00003088-200746010-00002]
- Hesselink DA, van Gelder T. Genetic and nongenetic determinants of between-patient variability in the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 317-321 [PMID: 16198650 DOI: 10.1016/j.clpt.2005.06.008]
- Kobayashi M, Saitoh H, Kobayashi M, Tadano K, Takahashi Y, Hirano T. Cyclosporin A, but not tacrolimus, inhibits the biliary excretion of mycophenolic acid glucuronide possibly mediated by multidrug resistance-associated protein 2 in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 1029-1035 [PMID: 14978191 DOI: 10.1124/jpet.103.063073]
- Bremer S, Vetthe NT, Rootwelt H, Bergan S. Expression of IMPDH1 is regulated in response to mycophenolate concentration. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 173-180 [PMID: 19010451 DOI: 10.1016/j.intimp.2008.10.017]
- Glander P, Sommerer C, Arns W, Ariatbar T, Kramer S, Vogel EM, Shipkova M, Fischer W, Zeier M, Budde K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intensified versus standard dosing of mycophenolate sodium in renal transplant patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 503-511 [PMID: 20150450 DOI: 10.2215/CJN.06050809]
- de Winter BC, van Gelder T, Mathot RA, Glander P, Tedesco-Silva H, Hilbrands L, Budde K, van Hest RM. Limited sampling strategies drawn within 3 hours postdose poorly predict mycophenolic acid area-under-the-curve after enteric-coated mycophenolate sodium. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 585-591 [PMID: 19704401 DOI: 10.1097/FTD.0b013e3181b8679a]
- Nart A, Sipahi S, Aykas A, Uslu A, Hoşçoşkun C, Toz H. Efficacy and safety of enteric-coated mycophenolate sodium in de novo and maintenance renal transplant patients. *Transplant Proc* 2008; 40: 189-192 [PMID: 18261583 DOI: 10.1016/j.transproceed.2007.11.066]
- Zimmerhackl LB, Jungraithmayr T, Wiesmayr S, Filler G. Myfortic in pediatric transplantation. *Pediatr Transplant* 2008; 12: 614-616 [PMID: 18518910 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2008.00979.x]
- Reyes H, Hernández AM, Valverde S, Cataneo A, Mendoza A, Barrera I, Ortiz L, García-Roca P, López-Martínez B, Castañeda-Hernández G, Medeiros M. Efficacy and safety of conversion of mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in Mexican renal transplant children. *Pediatr Transplant* 2010; 14: 746-752 [PMID: 20412508 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2010.01326.x]
- Qiu K, Tian H, Wang W, Hu XP, Li XB, Gong LL, Luo W, Liu LH, Zhang XD, Yin H. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in Chinese renal transplantation recipients. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 4226-4232 [PMID: 23217391]
- Perry TW, Christians U, Trotter JF, Bendrick-Pearl J. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in stable liver transplant recipients. *Clin Transplant* 2007; 21: 413-416 [PMID: 17488394 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2007.00662.x]
- Sommerer C, Müller-Krebs S, Schaefer M, Glander P, Budde K, Schwenger V, Mikus G, Zeier M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2010; 69: 346-357 [PMID: 20406219 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2009.03612.x]
- Ettenger R, Bartosh S, Choi L, Zhu W, Niederberger W, Campestrini J, Bastien MC, Schmouder R. Pharmacokinetics of enteric-coated mycophenolate sodium in stable pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2005; 9: 780-787 [PMID: 16269051 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2005.00386.x]
- Stracke S, Shipkova M, Mayer J, Keller F, Zarghom

A, Yang L, Henne-Bruns D, Wieland E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate sodium (EC-MPS) co-administered with cyclospo-

rine in the early-phase post-kidney transplantation. *Clin Transplant* 2012; 26: 57-66 [PMID: 21299636 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2011.01403.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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

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

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

(总编辑: 马连生2011-05-30)

腹腔镜胆囊切除术治疗“高危”胆囊结石93例

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉

■背景资料

微创是普通外科发展的一个方向, 腹腔镜胆囊切除术是胆囊良性疾病的金标准, 但对高危人群却受到挑战。腹腔镜胆囊切除术得到医生和患者的青睐, 但医源性胆道损伤仍居高不下, 需引起同道的高度重视。

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉, 遵义医学院附属医院贵州省遵义市 563003

蔡治方, 讲师, 主要从事肝胆胰疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 主要课题设计、数据分析和文章起草由蔡治方完成; 病例选择、临床资料收集和穿刺操作由蔡治方、兑丹华、兰天罡、刘尧及黄辉完成; 文章修改和审阅由蔡治方完成。

通讯作者: 蔡治方, 讲师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆胰外科。

zmcczf@sina.com

收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-16

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases

Zhi-Fang Cai, Dan-Hua Dui, Tian-Gang Lan, Yao Liu, Hui Huang

Zhi-Fang Cai, Dan-Hua Dui, Tian-Gang Lan, Yao Liu, Hui Huang, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Zhi-Fang Cai, Lecturer, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Hui-chuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. zmcczf@sina.com

Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-16

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the value of laparoscopic cholecystectomy (LC) in the treatment of gallstones in high-risk patients.

METHODS: One hundred high-risk patients with gallstones were divided into either an observation group or a control group. The observation group underwent LC, while the control group received conventional open cholecystectomy (COC). The operative time, length of hospital stay, intraoperative bleeding, comorbidities, and complications were compared between the two groups. The ASA classification system was used to classify the observation group into several subgroups (II to IV) to compare the above parameters.

RESULTS: The operative time, length of hospital stay, and intraoperative bleeding were sig-

nificantly better in the observation group than in the control group ($78.0 \text{ min} \pm 15.6 \text{ min}$ vs $91.9 \text{ min} \pm 14.4 \text{ min}$, $59.3 \text{ mL} \pm 18.4 \text{ mL}$ vs $76.1 \text{ mL} \pm 22.8 \text{ mL}$, $4.03 \text{ d} \pm 1.02 \text{ d}$ vs $6.98 \text{ d} \pm 1.77 \text{ d}$, all $P < 0.01$). ASA III and IV patients had significantly longer hospital stay and greater number of comorbidities and complications were significantly higher than ASA II patients (11.5 ± 5.7 vs 16.0 ± 10.9 , 36.5 ± 15.8 ; 1.1 ± 0.3 vs 1.3 ± 0.6 , 2.2 ± 1.0 ; 1.1 ± 0.4 vs 1.6 ± 0.9 , 2.6 ± 1.2 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: LC is superior to COC in the management of gallstones in high-risk patients in terms of reducing operative time, length of stay and intraoperative bleeding. ASA has a significant impact on prognosis, and ASA II patients have better prognosis than ASA III and IV patients.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gallstones; Laparoscopy; Cholecystectomy

Cai ZF, Dui DH, Lan TG, Liu Y, Huang H. Treatment of gallstones in high-risk patients using laparoscopic cholecystectomy: Analysis of 93 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2734-2738 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2734.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2734>

摘要

目的: 探讨腹腔镜胆囊切除术在“高危”胆囊结石患者中的诊治体会。

方法: 对180例诊断为“高危”胆囊结石的患者进行临床分组观察, 观察组治疗方案为腹腔镜胆囊切除术, 对照组治疗方案为常规开腹胆囊切除术。分析两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标, 同时根据美国麻醉医师学会(ASA)分级对观察组患者进行II-IV级的分组观察, 观察ASA II、ASA III以及ASA IV级患者在年龄、住院时间、并存病及并发症等方面的情况比较。

结果: 观察组患者手术时间、术中出血、住

■同行评议者

刘超, 教授, 主任医师, 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

院时间等手术指标均低于对照组($78.0 \text{ min} \pm 15.6 \text{ min}$ vs $91.9 \text{ min} \pm 14.4 \text{ min}$, $59.3 \text{ mL} \pm 18.4 \text{ mL}$ vs $76.1 \text{ mL} \pm 22.8 \text{ mL}$, $4.03 \text{ d} \pm 1.02 \text{ d}$ vs $6.98 \text{ d} \pm 1.77 \text{ d}$, 均 $P < 0.01$). ASAⅢ级以及ASAⅣ级患者出现并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高于ASAⅡ级患者. ASAⅡ级患者平均住院时间以及平均合并系统患病数、平均合并病数均明显少于ASAⅢ以及ASAⅣ级患者(11.5 ± 5.7 vs 16.0 ± 10.9 , 36.5 ± 15.8 ; 1.1 ± 0.3 vs 1.3 ± 0.6 , 2.2 ± 1.0 ; 1.1 ± 0.4 vs 1.6 ± 0.9 , 2.6 ± 1.2 , 均 $P < 0.05$).

结论: 腹腔镜胆囊切除术与传统开腹胆囊切除术相比, 疗效更优, 包括减少手术时间、住院时间以及术中出血等. 此外, ASA分级对患者预后有一定的影响, ASAⅡ级患者相关观察指标优于ASAⅢ级以及ASAⅣ级患者. 通过加强手术期间的监护, 能够有效降低患者其术后并发症的出现以及死亡.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: “高危”胆囊结石; 腹腔镜; 胆囊切除术

核心提示: 本研究首先对腹腔镜下胆囊切除术以及传统开腹胆囊切除术进行了相关手术指征的比较. 结果发现, 观察组手术时间、住院时间、术中出血等手术指标均明显优于对照组. 表明目前条件下, 腹腔镜下胆囊切除术是治疗“高危”胆囊结石较为行之有效的手术方案. 由于手术采用微创, 因此对患者的伤害较小, 术后恢复较快, 可以明显缩短患者的住院时间, 减轻经济负担.

蔡治方, 兑丹华, 兰天罡, 刘尧, 黄辉. 腹腔镜胆囊切除术治疗“高危”胆囊结石93例. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2734–2738 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2734.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2734>

0 引言

胆囊结石是外科极为常见的一类疾病, 目前我国结石病的发病率大约在7%-10%左右, 并且该比例呈现了明显的上升趋势^[1]. 对于胆囊结石的发生, 主要认为和先天、后天因素的共同作用相关^[2]. 有报道称^[3], 年龄较大、女性、有结石病家族史的人是本病的高发人群. 另外, 随着人民生活水平的不断提高, 人们的饮食结构发生了较大的改变. 现代人高热量、低纤维饮食居多, 也是本病发生的后天性因素^[4]. 手术治疗是根治本病的唯一有效办法, 临床手术中, 常见的有传

统开腹胆囊切除术以及较新的腹腔镜胆囊切除术^[5]. “高危”胆囊结石系指胆囊结石并存其他器官系统严重疾病或危重患者并发胆囊结石, 属于临床进展迅速, 病程中合并有较严重内科疾病的一类病症. 与普通胆囊结石相比, 其发病迅速、死亡率较高^[6]. 我院在多年的临床工作中, 采用腹腔镜胆囊切除术以及围手术期间监护治疗“高危”胆囊结石患者, 取得了较好的临床疗效, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入“高危”胆囊结石病例180例, 患者入院后均已确诊为“高危”胆囊结石. 纳入标准: (1)临床诊断为胆囊结石; (2)病程中合并有“高血压、糖尿病、冠心病、肺气肿、肺心病”等慢性疾病病史. 根据手术方案的不同, 可分为观察组以及治疗组. 其中观察组患者93例, 手术方案为腹腔镜胆囊切除术, 男33例, 女60例, 年龄37-85岁, 平均年龄 $63.2 \text{岁} \pm 12.1 \text{岁}$, 其中胆囊结石合并慢性胆囊炎患者83例, 胆囊积液患者4例, 继发性胆总管结石患者6例; 对照组患者87例, 手术方案为传统开腹胆囊切除术, 男30例, 女57例, 年龄35-87岁, 平均年龄 $63.4 \text{岁} \pm 12.3 \text{岁}$, 其中胆囊结石合并慢性胆囊炎患者78例, 胆囊积液患者5例, 继发性胆总管结石患者4例. 对两组患者性别、年龄、胆囊结石疾病等资料进行统计学处理, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性. 此外, 采用美国麻醉医师学会(American Society of Anesthesiologists, ASA)评分标准^[7]对93例观察组患者进行临床评分, 根据得分可分为ASAⅡ级、ASAⅢ级、ASAⅣ级. 其中ASAⅡ级患者32例、ASAⅢ级患者48例、ASAⅣ级患者13例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者术前均禁食6 h, 手术时体位均取仰卧位, 术前进行手术区域常规消毒, 麻醉均采用气管插管静脉复合麻醉或持续硬膜外麻醉辅助气管插管静脉复合麻醉法. (1)观察组: 手术方案为腹腔镜下胆囊切除术. 用Veress针先行进行脐中穿刺, 选择低气压缓慢注入 CO_2 , 以制造气腹, 由于“高危”胆囊结石患者往往体质较为虚弱, 因此耐受力较正常胆囊结石患者低. 所以, 在制造气腹时, 压力以患者能够耐受8-14 cm水柱为佳, 此时患者有腹部胀痛、轻度气憋感. 手术中, 将自动气腹机压力设定为8 mmHg,

■ 研发前沿

腹腔镜胆囊切除术是目前临床上治愈胆囊结石以及胆囊炎最为有效的方法, 但由于一些患者既往存在较为严重的内科疾病, 以及患者年龄较大, 基础疾病较多, 手术的风险往往较高. 这些“高危”胆囊结石患者即使得到有效的诊治, 并积极进行手术, 术后发生死亡的比例仍较大. 因此, 如何有效提高手术效果, 降低术后患者死亡率, 就成为目前临床研究的重点.

■应用要点

对“高危”胆囊结石患者传统的处理方法提出挑战,在积极围手术期处理后仍可以考虑微创处理。

表 1 两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标分析 (n , mean \pm SD)

分组	n	手术时间(min)	术中出血(mL)	住院时间(d)
观察组	93	78.0 \pm 15.6	59.3 \pm 18.4	4.03 \pm 1.02
对照组	87	91.9 \pm 14.4	76.1 \pm 22.8	6.98 \pm 1.77
t 值		6.20	5.47	13.81
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

表 2 腹腔镜胆囊切除术患者合并内科疾病情况比较 (n)

ASA	n	并存系统患病例数(%)			并存病例数(%)		
		1个系统	2个系统	3个系统	1种疾病	2种疾病	3种疾病
II	32	27(84.38)	2(6.25)	0	26	2(6.25)	0
III	48	25(52.08)	8(16.67)	6(12.50)	25	9(18.75)	4(8.33)
IV	13	4(30.77)	4(30.77)	3(23.08)	3	4(30.77)	3(23.08)

ASA: 美国麻醉医师学会。

表 3 腹腔镜胆囊切除术患者一般情况及治疗情况分析 (n , mean \pm SD)

ASA	n	住院时间(d)	平均合并系统患病数	平均合并病数
II	32	11.5 \pm 5.7	1.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.4
III	48	16.0 \pm 10.9 ^a	1.3 \pm 0.6 ^e	1.6 \pm 0.9 ⁱ
IV	13	36.5 \pm 15.8 ^c	2.2 \pm 1.0 ^g	2.6 \pm 1.2 ^k

$t = 84.50$, ^a $P < 0.05$; $t = 7.88$, ^c $P < 0.05$; $t = 1.74$, ^e $P < 0.05$; $t = 5.70$, ^g $P < 0.05$; $t = 2.95$, ⁱ $P < 0.05$; $t = 6.34$, ^k $P < 0.05$ vs II级。ASA: 美国麻醉医师学会。

注入速度为1.0-1.5 L/min. 在CO₂注入过程中需进行密切关注,防止CO₂溢到皮下。腹机压力设定可根据手术情况进行改变,但需要注意的是,腹压切勿超过10 mmHg,以免引发患者心脏疾患。因此,术中暴露和切除过程中要特别注意慢操作、明视野,若暴露困难,操作时间过长,患者不能耐受,出现明显不适时,应该果断中止腹腔镜胆囊切除术。同时作血氧饱和度监测和血气分析使CO₂分压保持在正常范围。其他的操作同传统的四孔法腹腔镜胆囊切除术法; (2)对照组:手术方案为传统开腹胆囊切除术。

1.2.2 观察指标: 观察两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标,同时根据ASA分级对观察组患者进行II-IV级的分组观察,观察ASA II、ASA III以及ASA IV级患者在年龄、住院时间、并存病及并发症等方面的情况比较。

统计学处理 应用SPSS13.0软件。计量资料以mean \pm SD表示,均数比较采用 t 检验、方差因素分析,计数资料比较采用方差检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术时间、住院时间、术中出血等手术指标分析 对患者的手术时间比较发现,观察组的时间明显少于对照组($P < 0.01$),而住院时间上以及术中出血等指标上,观察组亦较对照组有一定的优势($P < 0.01$)(表1)。

2.2 腹腔镜胆囊切除术患者合并内科疾病情况比较 观察组中共有50例患者合并心血管疾病,其中以高血压、冠心病较为多见;33例患者合并有内分泌代谢性疾病,其中以糖尿病、甲亢以及甲减较为多见;12例患者合并有呼吸系统疾病,其中以肺气肿、肺心病以及肺部感染较为多见;4例患者合并有脑血管意外后遗症,主要为偏瘫以及失语等。ASA III级、ASA IV级患者2个系统以上患病、2种疾病以上例数明显高于ASA II级患者(表2)。

2.3 腹腔镜胆囊切除术患者一般情况及治疗情况分析 ASA II级患者住院时间明显低于ASA III级、ASA IV级患者($P < 0.05$)。ASA III级、ASA IV级患者并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高

于ASA II级患者($P<0.05$)(表3).

2.4 腹腔镜胆囊切除术患者术后并发症情况分析
ASA II级患者术后未出现并发症, ASA III级、ASA IV级患者共出现7例, 8次并发症, 其中3例为手术切口感染、2例为肺部感染、1例为术后腹腔出血、2例为冠心病发展. 所有患者手术及住院期间均未出现死亡病例.

3 讨论

胆囊切除术是目前临床上治愈胆囊结石以及胆囊炎最为有效的方法. 临床研究表明^[8,9], 由于一些患者既往存在较为严重的内科疾病, 以及患者年龄较大, 基础疾病较多, 手术的风险往往较高. 这些“高危”胆囊结石患者即使得到有效的诊治, 并积极进行手术, 术后发生死亡的比例仍较大. 有文献表明^[10,11], “高危”胆囊结石患者术后致死率达到6%-46%, 而这一比例在普通胆囊结石患者中小于1%. 因此, 如何有效提高手术效果, 降低术后患者死亡率, 就成为目前临床研究的重点.

3.1 不同手术方案疗效 本研究首先对腹腔镜下胆囊切除术以及传统开腹胆囊切除术进行了相关手术指征的比较. 结果发现, 观察组手术时间、住院时间、术中出血等手术指标均明显优于对照组. 说明目前条件下, 腹腔镜下胆囊切除术是治疗“高危”胆囊结石较为行之有效的手术方案. 由于手术采用微创, 因此对患者的伤害较小, 术后恢复较快, 可以明显缩短患者的住院时间, 减轻经济负担.

3.2 腹腔镜下胆囊切除术患者ASA分级分析
ASA II级患者住院时间明显低于ASA III级、ASA IV级患者. ASA III级、ASA IV级患者并存系统患病例数和平均并存系统患病数以及并存疾病数和平均并存疾病数均明显高于ASA II级患者. 说明随着ASA II级患者预后往往较好, 而ASA III级、ASA IV级患者出现术后并发症的几率增高, 增加了住院时间.

3.3 腹腔镜下胆囊切除术围手术期间监护

3.3.1 术前准备: 术前需要对患者全身切口进行详细评估, 特别对于心、肝、肺、肾的功能状态以及生化的检查, 显得尤为重要. 对于严重心肺或肝肾功能异常的患者, 特别需要综合判断, 是否进行手术.

3.3.2 加强围手术期并存疾病的治疗与监护: (1) 高血压病: 高血压病1、2期的患者, 在手术期间往往不需要特别注意, 对于高血压病3期的患者,

在手术前必须将血压控制在140/90 mmHg以下. 若患者病情危急, 必须立即进行手术, 可静脉给予快速降血压药; (2) 冠心病: 冠心病是“高危”胆囊结石患者术后发生死亡的重要危险病因之一, 特别是既往有心梗发作病史的患者, 术后死亡率达到32%-69%, 因此治疗颇为棘手^[12]. 目前有研究表明^[13], β 受体阻滞剂能够减少围手术期心梗等心脏并发症的发作, 可以提高患者生存率. 因此, 对于既往有心梗发作病史的患者, 入院后即应给予 β 受体阻滞剂口服; (3) 内分泌代谢系统: 糖尿病、甲亢以及加减是主要的内分泌代谢系统疾病. 其中, 糖尿病患者术后切口不易愈合, 极易引发切口的感染^[14]. 因此对于此类患者, 临床上应该积极控制血糖, 调节甲状腺激素水平, 尽量在正常指标范围内进行手术; (4) 呼吸系统: 呼吸系统疾病常见于老年患者, 其中以慢性支气管炎、肺气肿、肺心病以及肺部感染较为多见^[15]. 因此, 入院期间, 应该积极控制患者炎症、祛痰, 并保持血氧饱和度. 对于术后卧床时间较长的患者, 更应注意肺炎的发生.

3.3.3 术中术后监护与治疗: (1) 麻醉方法是影响“高危”胆囊结石患者手术疗效及预后的一个重要内容, 本研究采用了气管插管静脉复合麻醉或持续硬膜外麻醉辅助气管插管静脉复合麻醉法, 不但可以得到较好的麻醉效果, 又能保证术中患者呼吸循环的稳定, 维持患者术中血氧饱和度, 较大程度上避免单纯持续硬膜外麻醉的不利影响; (2) 能否耐受气腹是手术成功的关键: 传统的腹腔镜手术中, 由于气腹所用压力较大, 达到14 mmHg, 而注入CO₂的流量较大, 3-4 L/min. 目前的观点认为, CO₂过多被吸收到血液中, 能够使得脑血管的阻力升高. 而腹内压的增高可增加心脏以及肺部的负担, 造成高碳酸血症的出现, 更可致心跳骤停. 为解决这一问题, 我们采用了低气压缓慢注气的方法, 同时作血氧饱和度监测和血气分析, 使CO₂分压保持在正常范围之内, 这样CO₂对脑血管的影响不大. 操作过程中腹内压可逐渐增加至10 mmHg. 此压力既能满足手术的需要, 又对呼吸循环不造成影响.

总之, 腹腔镜胆囊切除术在治疗“高危”胆囊结石患者中, 具有良好的临床疗效. ASA III级、ASA IV级患者由于合并多系统疾病, 因此术后并发症及死亡风险较高, 但通过积极、合理的围手术期监护及治疗措施, 能够将各类并发症及死亡率降至最低.

■同行评价

本文再次证明, 腹腔镜胆囊切除术具有微创的优势, 尤其是对高危的胆囊结石患者. 作者对高危胆囊结石患者行腹腔镜切除的指征、术中注意事项也进行了讨论, 具有一定的参考意义.

4 参考文献

- 雷福明, 黄文生, 崔士华. 胆囊结石患者肠道通透性的改变及其意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3043-3046
- 李进军, 伍冀湘, 梁杰雄. 腹腔镜胆囊切除辅助小切口胆总管探查治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床研究. 临床外科杂志 2012; 20: 551-553
- 陈志良, 任培土, 鲁葆春, 方剑峰, 杨建辉, 朱志杨. 胃大部切除术后患者实施腹腔镜胆囊切除和胆总管探查术的体会. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 427-429
- 孙诚谊, 朱海涛. 胆囊功能的新认识. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3181-3185
- 石玉宝, 刘斌, 鲁蓓, 董万斌, 孙太冉, 王新波, 郭为佳. 微创保胆取石术与腹腔镜胆囊切除术对患者影响的比较. 实用医学杂志 2013; 29: 609-611
- 王帅, 秦鸣放. 经脐单孔腹腔镜胆囊切除术治疗单纯胆囊结石、胆囊息肉临床观察. 山东医药 2012; 52: 78-79
- 杨成林, 别玉坤, 贺永峰, 马栋, 金鑫, 肖翔, 高原, 王宁, 杨小翠. 微创保胆取石术与腹腔镜胆囊切除术治疗胆囊结石的疗效比较. 安徽医学 2012; 33: 702-704
- 于聪慧, 梅建民, 余昌中, 姚波, 杨荣华, 聂洪峰. 腹腔镜联合胆道镜治疗继发性胆道结石术后并发症分析. 中华肝胆外科杂志 2011; 7: 732-734
- 邹浩, 朱红, 张小文, 王琳, 李晓, 王琨, 王炳煌. 胆囊结石合并胆总管结石微创治疗方式的选择. 广东医学 2011; 32: 1319-1321
- 林天龙, 毛志海, 张卓, 王明亮, 郑民华. 腹腔镜胆囊切除术中联合ERCP治疗胆囊结石合并肝外胆管结石. 外科理论与实践 2011; 16: 541-544
- 王栓铎, 王延朋. 腹腔镜胆囊切除联合胆总管探查术治疗胆囊结石并胆总管结石的临床研究. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 841-843
- 俞海波, 郑晓风, 金肖丹, 陈雷, 宋洪亮. 腹腔镜胆囊切除术中无征兆胆总管结石一次性治疗26例体会. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 223-225
- 危少华, 张同领, 李伟, 陈雷, 宋洪亮. 腹腔镜、硬质胆道镜、软质胆道镜三镜技术在保胆取石(息肉)术的临床应用. 中华普通外科杂志 2012; 27: 373-376
- 张立新, 常绪生, 印慨. 腹腔镜胆囊切除术中联合十二指肠镜一期治疗胆囊结石合并胆总管结石. 中国医师进修杂志 2013; 36: 54-55
- 詹国庆, 竹锡锋, 董国钢. 两种微创方式治疗胆囊结石合并胆总管结石232例. 腹部外科 2012; 25: 227-229

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

原发性十二指肠腺瘤的手术方式

周兵, 刘斌, 汪正伟, 王飞通, 魏鑫, 牛坚

周兵, 汪正伟, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221000
刘斌, 王飞通, 魏鑫, 牛坚, 徐州医学院附属医院普外科 江苏省徐州市 221002

周兵, 在读硕士, 主要从事胃肠肝胆肿瘤外科的研究。

作者贡献分布: 此课题由周兵与刘斌设计; 病例收集有汪正伟、魏鑫、王飞通及牛坚完成; 数据分析由王飞通与魏鑫完成; 本文写作由周兵与刘斌完成。

通讯作者: 刘斌, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院普外科11病区。

liubin.xy@163.com

收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Surgical treatments for primary duodenal adenoma

Bing Zhou, Bin Liu, Zheng-Wei Wang, Fei-Tong Wang, Xin Wei, Jian Niu

Bing Zhou, Zheng-Wei Wang, Graduate School, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Bin Liu, Fei-Tong Wang, Xin Wei, Jian Niu, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Bin Liu, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. liubin.xy@163.com
Received: 2013-07-22 Revised: 2013-08-07
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical features of and surgical options for duodenal adenoma.

METHODS: Clinical data for 18 patients with pathologically confirmed primary duodenal adenoma who underwent surgical treatment were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of all patients, 5 had adenoma, 5 had Brunner's adenoma, 4 had villous tubular adenoma, 3 had villous adenoma, 1 had tubular adenoma; 10 had a tumor in the descending duodenum (including 4 cases near the nipple), 5 in the bulbous duodenum, 3 in the horizontal part; 11 underwent local tumor resection, 4 underwent pancreaticoduodenectomy, 1 underwent routine gastrectomy, 1 underwent partial excision of the duodenal papilla plus routine angioplasty, 1 underwent routine duodenal

bowel resection, 1 underwent pancreaticoduodenectomy plus postoperative pancreatic fistula. Approximately 89% of patients were followed, and the follow-up duration was 6-91 mo. Two patients died of non-related disease, and one patient developed recurrence after local excision of villous adenoma.

CONCLUSION: The choice of surgical procedure for primary duodenal adenoma depends on the anatomical specificity and tumor histological type. Local excision is the preferred surgical approach with good prognosis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Duodenum; Benign adenomas; Surgery

Zhou B, Liu B, Wang ZW, Wang FT, Wei X, Niu J. Surgical treatments for primary duodenal adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2739-2742 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2739.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2739>

摘要

目的: 探讨原发性十二指肠良性腺瘤的临床特点及手术方式选择。

方法: 回顾性分析18例经术后病理证实为原发性十二指肠良性腺瘤的临床资料、外科治疗方式并进行随访研究。

结果: 术后病理证实为腺瘤5例, Brunner腺瘤5例, 绒毛管状腺瘤4例, 绒毛状腺瘤3例, 管状腺瘤1例。肿瘤位于十二指肠降部10例(其中位于乳头附近4例), 球部5例, 水平部3例。行肿瘤局部切除11例, 行胰十二指肠切除术4例, 行局部切除加十二指肠乳头成形术1例, 1例行胃大部切除及毕Ⅱ式吻合术, 1例行十二指肠局部肠段切除术。1例患者行胰十二指肠切除术后出现胰瘘, 随访率为89%, 时间为6-91 mo, 有2例患者死于非相关性疾病, 1例绒毛状腺瘤局部切除术后复发。

结论: 原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式

■背景资料

原发性十二指肠腺瘤临床上较为罕见, 而其手术方式及预后尚存争议, 本研究旨在探讨其临床特点及手术方式, 应用于临床工作。

■同行评议者

姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿

国内外尚没有明确关于原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式的指导,需要进一步的研究以指导临床工作。

的选择依赖于解剖的特殊性及肿瘤的病理组织学类型,一般局部切除为首选手术方式,预后较好。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 十二指肠; 良性腺瘤; 手术

核心提示: 原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式的选择依赖于解剖的特殊性及肿瘤的病理组织学类型,一般局部切除为首选手术方式。

周兵, 刘斌, 汪正伟, 王飞通, 魏鑫, 牛坚. 原发性十二指肠腺瘤的手术方式. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2739-2742 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2739.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2739>

0 引言

原发性十二指肠良性腺瘤临床较为罕见,起病隐匿,早期临床表现常缺乏特异性、典型性,因此不易诊断,加上其特殊的解剖生理结构,临床上极易误诊、漏诊。但随着内窥镜(尤其是内镜逆行性胰胆管造影及超声内镜)和影像学检查的发展与提高,该病的诊断率有所改善^[1-3]。现对徐州医学院附属医院普外科收治的18例原发性十二指肠良性腺瘤病例的临床特点及手术方式选择进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 一般资料: 2005-09/2013-04普外科共收治18例经术后常规病理证实为原发性十二指肠良性腺瘤的患者,其中女7例,男11例,年龄36-80岁,平均年龄61岁。

1.2 方法

1.2.1 临床症状: 9例患者有程度不等的上腹部不适或钝痛,其中部分患者有进食后症状加重现象; 5例皮肤巩膜黄染; 6例有明确的排黑便史; 1例以贫血就诊(血红蛋白59 g/L)。

1.2.2 术前诊断: 10例通过胃镜及十二指肠镜检查发现肿瘤,其中活检结果与术后病理一致为6例,5例首先由X线计算机断层摄影(computed tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)发现病变,再行内镜逆行性胰胆管造影检查证实十二指肠乳头占位,另3例通过CT或MRI证实占位。

2 结果

2.1 手术方式 所有患者均行手术治疗,行肿瘤局

部切除11例,行胰十二指肠切除术4例,行局部切除加十二指肠乳头成形术1例,1例行胃大部切除及毕Ⅱ式吻合术,1例行十二指肠局部肠段切除术。

2.2 临床病理及病灶部位 术后常规病理证实均为良性病变,其中Brunner腺瘤5例,腺瘤5例,绒毛管状腺瘤4例,绒毛状腺瘤3例,管状腺瘤1例。肿瘤位于十二指肠降部10例(其中位于乳头附近4例),球部5例,水平部3例。

2.3 术后并发症及随访 1例患者行胰十二指肠切除术后出现胰瘘,经对症治疗后痊愈,其余患者围手术期恢复平稳,未出现严重并发症。

本组患者共18例,随访到16例(89%),时间为6-91 mo。有2例患者死于非相关性疾病,1例绒毛状腺瘤局部切除术后复发,经病理证实为十二指肠腺瘤,予以行胰十二指肠切除术,术后未见严重并发症,随访至今未见复发。

3 讨论

原发性十二指肠肿瘤占消化系统肿瘤总数不足1%,且以恶性居多,良性约占25%^[4]。早期良性十二指肠腺瘤瘤体较小,一般无明显的临床症状和体征,可在体检时偶然发现,当肿瘤逐渐增大,由于瘤体牵拉、瘤体表面和瘤旁溃疡的形成,可有黑便、呕血和贫血表现。当肿瘤进一步增大到一定程度时,可引起梗阻症状,如上腹部饱胀不适、恶心、呕吐等。而位于十二指肠乳头部位及附近的肿瘤,可引起胆管、胰管扩张,出现阻塞性黄疸和胰腺炎的表现^[5-7]。回顾本研究中患者病史,半数患者(9/18)出现上腹部隐痛不适、呕吐症状,但其表现不易与其他消化科疾病的发作鉴别;小部分患者(6/18)有上消化道出血,表现为不明原因的黑便,其中1例有贫血病史,经血液内科治疗无明显好转后行十二指肠镜检查发现十二指肠降部有息肉隆起样肿块,表面糜烂出血,入院时血红蛋白仅有59 g/L;少数患者(5/18)出现黄疸症状,影像学均提示胆道下端梗阻,其中本组有4例患者误诊为壶腹癌。

十二指肠良性腺瘤以降部最常见,其次为水平部和升部,其中Brunner腺瘤、绒毛状腺瘤尤好发于十二指肠乳头部位^[8]。本研究中降部10例,球部5例,水平部3例,与上述文献报道相似。诊断十二指肠疾病的主要手段有内镜、上消化道钡剂造影、CT、MRI和数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)等,但这些只能提示有占位性病变,对肿瘤的性质不易鉴

■相关报道

已有不少文献总结了十二指肠良性肿瘤的临床特点,对原发性十二指肠良性腺瘤的临床应用有重要价值。

别.作为目前较理想的消化内镜检查,虽然可以直接观察到包块,判断是否位于黏膜下,而且可取活组织做病理检查.但因包块表面被覆完整黏膜,且活组织检查比较表浅,很难取到肿瘤组织,故多数情况下活组织检查表现为阴性.本组有10例患者行胃十二指肠镜检查,仅有6例术前活检结果与术后病理一致,而且其中有3例首次病理提示为黏膜慢性炎,再次行内镜活检才明确性质.

手术切除是十二指肠良性肿瘤的首选治疗方法^[1,4,9],但是手术方式的选择尚存争议,一方面原因在于解剖结构的特殊,在整个肠道内十二指肠内的压力最高,肠壁较薄,与壶腹部关系密切,尤其与胰头、胆总管有共同的血液供应,行肿瘤局部切除后很可能会影响周围脏器、组织的血供及破坏胆胰管的结构和功能.另一方面,十二指肠良性肿瘤约有15%的恶变可能^[9],但鉴于术前病理的局限性,活检一般难以明确肿瘤性质.于岚等^[1]在研究51例十二指肠及壶腹部良性肿瘤时发现,患者的年龄和瘤体大小对手术方式的选择不起决定性作用,作者在临床中也得到相似结论,而且发现,解剖条件和肿瘤类型是指导十二指肠良性腺瘤手术方式的原则,且术中快速冰冻切片是明确肿瘤组织类型的主要手段.

由于解剖生理结构的特殊性,十二指肠术后主要并发症是肠漏的发生,但经术中术后充分的肠道减压,可有效地防止十二指肠痿的发生.我们的经验是缝合切口前,将胃管减压管(附带空肠减压管及鼻肠营养管)放置在十二指肠的切口远端,并使用“1”号可吸收缝线严密的逐层缝合,达到肠道减压的目的.本科收治的18例患者无一例十二指肠痿的发生.局部切除^[10]或肠段切除可应用于非十二指肠乳头部位的腺瘤,因为其部位附近没有特殊重要的组织结构,可以达到治愈且保留机体生理功能的目的.而近幽门部位的肿瘤切除后组织结构破坏较多,可行胃大部切除,及毕I或毕II式吻合.位于十二指肠乳头的病变,因其局部切除后常有十二指肠乳头术后狭窄的发生,手术方式的选择则较为困难,我们的原则是在保证肿瘤切除的完整性及切缘阴性的前提下,对于肿块较小乳头破坏较轻时则行局部切除并常规作胆总管切开放置T管引流,而对于术后可能发生狭窄时可行乳头成形或括约肌术,若肿瘤较大,切除后oddi括约肌和胰胆管破坏严重难以成形则行胰

十二指肠切除.

除解剖因素外,还需考虑十二指肠良性腺瘤类型来选择手术方式,如绒毛状腺瘤局部切除后复发率为32%-43%^[11,12],且复发后恶性变率为24%-50%,管状腺瘤复发后恶变率为14%,绒毛管状腺瘤复发后恶变率介于两者之间^[13].Cavallini等^[14]发现部分患者由于肿瘤位于黏膜下、表面炎症坏死等因素的干扰下,常常“逃避”了浅表的组织活检,但在术中快速冰冻发现肿瘤的基底部有恶性病变的存在.我们的经验是对于这些特殊类型肿瘤适当的扩大切除,一般距肿瘤边缘0.4-0.5 cm完整切除,而对于这类无蒂的病变,则切除肿瘤边缘0.5-1.0 cm的组织,明确证实切缘阴性,尤其是基底部切缘,因此对于位于十二指肠乳头部位的这类腺瘤,局部切除后对乳头及胆总管下端破坏严重不能作成形术时,则考虑行胰十二指肠切除术.但Grobmyer等^[15]在研究壶腹部肿瘤时指出,术中冰冻切片病理检查仍存在一定的局限性,与术后常规病理及免疫组织化学诊断存在一定的误差.本组18例患者中有一例患者术前活检及术中快速病理都考虑为慢性炎症,予以局部切除后,随访至26 mo患者再次出现黄疸症状,考虑复发,术中行快速病理考虑十二指肠腺瘤,予以行胰十二指肠切除术切除,痊愈出院,随访至今未复发.

总之,对于原发性十二指肠良性腺瘤局部切除为首选手术方式,但是对于一些特殊类型、特殊部位的肿瘤应考虑扩大切除,甚至行胰十二指肠切除术.

4 参考文献

- 1 于岚,何小东,武峤,刘卫,洪涛.十二指肠、壶腹部良性肿瘤手术方式的探讨.中华普通外科杂志 2011; 26: 773-774
- 2 覃华,赵秋,李德民,高红宇,李荣香,张敏,胡继芬,王渝.内镜下十二指肠乳头切除术在乳头部肿瘤诊断中的价值.世界华人消化杂志 2012; 20: 2305-2309
- 3 丁向萍,张锦华,庄剑波,廖连生,张富花,袁菊霞,陈丽.超声内镜下诊治上消化道良性隆起型病变118例.世界华人消化杂志 2009; 21: 2208-2211
- 4 严佑祺,彭承宏,杨卫平,丁家增,周光文,陈拥军,金筱泰,李宏为.十二指肠良性肿瘤的手术治疗.上海交通大学学报(医学版) 2008; 28: 1575-1583
- 5 Perez A, Saltzman JR, Carr-Locke DL, Brooks DC, Osteen RT, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Benign nonampullary duodenal neoplasms. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 536-541 [PMID: 12763412 DOI: 10.1016/S1091-255X(02)00146-4]
- 6 许国强,章宏,厉有名,陈洪潭,季峰,陈春晓,任国平,倪晓莹.15例十二指肠Brunner腺瘤的诊治.中华消化杂志 2006; 28: 511-514
- 7 刘婉薇,马娟,余莲英,沙卫红,王启仪.上消化道息肉临床特征分析2376例.世界华人消化杂志 2013; 21:

■创新盘点

较多文献报道了十二指肠良性肿瘤的临床特点,而单独对于十二指肠良性腺瘤报道较少,本文着重研究其手术方式的选择及预后.

■应用要点

本文对原发性十二指肠良性腺瘤的手术方式选择有独特的临床应用价值.

■同行评价

本文评价了原发性十二指肠良性腺瘤的临床特点及手术方式,具有一定的临床指导意义。

- 709-713
- 8 Pezet D, Rotman N, Slim K, Boudet MJ, Chipponi J, Fagniez PL. Villous tumors of the duodenum: a retrospective study of 47 cases by the French Associations for Surgical Research. *J Am Coll Surg* 1995; 180: 541-544 [PMID: 7749529]
- 9 张维建, 韩少良, 蒋飞照, 梁廷波, 柯庆宏. 原发性十二指肠良性肿瘤的临床特点与外科治疗. *温州医学院学报* 2007; 37: 567-568
- 10 乔岐禄, 刘斯. 局部切除术在Vater壶腹肿瘤治疗中的地位. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 463-467
- 11 Farnell MB, Sakorafas GH, Sarr MG, Rowland CM, Tsiotos GG, Farley DR, Nagorney DM. Villous tumors of the duodenum: reappraisal of local vs. extended resection. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 13-21, discussion 22-23 [PMID: 10631358 DOI: 10.1016/S1091-255X(00)80028-1]
- 12 Heidecke CD, Rosenberg R, Bauer M, Werner M, Weigert N, Ulm K, Roder JD, Siewert JR. Impact of grade of dysplasia in villous adenomas of Vater's papilla. *World J Surg* 2002; 26: 709-714 [PMID: 12053224 DOI: 10.1007/S00268-002-6215-X]
- 13 刘玉良, 李红霞. 十二指肠腺瘤性息肉10例诊治体会. *河南外科学杂志* 2002; 8: 15-16
- 14 Cavallini M, Cavaniglia D, Felicioni F, Vitale V, Pillozzi E, Ziparo V. Large periampullary villous tumor of the duodenum. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 526-528 [PMID: 17909726 DOI: 10.1007/S00534-006-1206-1]
- 15 Grobmyer SR, Stasik CN, Draganov P, Hemming AW, Dixon LR, Vogel SB, Hochwald SN. Contemporary results with ampullectomy for 29 "benign" neoplasms of the ampulla. *J Am Coll Surg* 2008; 206: 466-471 [PMID: 18308217 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.09.005]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

WJG 总被引频次排名位于第 174 名

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

促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用

曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦

曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦, 海南省澄迈县人民医院内一科 海南省澄迈县 571900

曾捷, 副主任医师, 主要从事普通内科的相关研究.

作者贡献分布: 本文写作由曾捷完成; 治疗过程由曾捷、王秋女、冯维智及何和钦共同操作完成; 文章审核由王秋女、冯维智及何和钦完成.

通讯作者: 曾捷, 副主任医师, 571900, 海南省澄迈县金江镇文化北路177号, 海南省澄迈县人民医院内一科.

zengjie_hn@163.com

收稿日期: 2013-08-21 修回日期: 2013-09-02

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-18

Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation

Jie Zeng, Qiu-Nv Wang, Wei-Zhi Feng, He-Qin He

Jie Zeng, Qiu-Nv Wang, Wei-Zhi Feng, He-Qin He, Department of Internal Medicine, People's Hospital of Chengmai, Chengmai 571900, Hainan Province, China

Correspondence to: Jie Zeng, Associate Chief Physician, Department of Internal Medicine, People's Hospital of Chengmai, Chengmai 571900, Hainan Province, China. zengjie_hn@163.com

Received: 2013-08-21 Revised: 2013-09-02

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation.

METHODS: Ninety patients with chronic constipation who requested colonoscopy were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was given polyethylene glycol solution, group B was treated by mosapride plus polyethylene glycol solution, and group C was given mosapride alone. The extent of intestinal cleanliness and the incidence of side effects were compared between the three groups.

RESULTS: The colon cleaning score was significantly higher in groups C and B than in group A (7.13 ± 1.12 , 6.65 ± 1.18 vs 5.81 ± 1.19 , both $P < 0.05$). The frequency of bowel movement in group C was significantly higher than that in

group A (7.15 ± 1.61 vs 6.54 ± 1.52 , $t = 2.724$, $P = 0.023$). The intestinal bubble score showed no statistically significant difference among the three groups ($F = 0.359$, $P = 0.699$). The incidence of side effects also did not differ significantly among the three groups (16.67%, 13.33% and 6.67%, $\chi^2 = 1.450$, $P = 0.484$).

CONCLUSION: Mosapride can effectively improve bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colonoscopy; Mosapride; Prokinetic agents; Polyvinylideneglycols; Constipation

Zeng J, Wang QN, Feng WZ, He HQ. Role of mosapride in improvement of bowel preparation before colonoscopy in patients with constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2743-2747 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2743.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2743>

摘要

目的: 探讨促胃肠动力药(莫沙必利)在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用.

方法: 结肠镜检查的慢性便秘患者90例, 采用随机数字表法分为A组(聚乙二醇溶液)、B组(莫沙必利+聚乙二醇溶液)和C组(莫沙必利), 每组30例. 比较3组患者肠腔清洁程度和服用药物后的安全性.

结果: C组(7.13 ± 1.12)、B组(6.65 ± 1.18)结肠清洁程度总分均高于A组(5.81 ± 1.19)评分(Benferoni检验均 $P < 0.05$); C组排便总次数多于A组(7.15 ± 1.61 vs 6.54 ± 1.52), 差异有统计学意义($t = 2.724$, $P = 0.023$), 3组结肠腔内气泡情况差异未见统计显著性($F = 0.359$, $P = 0.699$). A、B、C 3组不良反应总发生率分别为16.67%(5/30)、13.33%(4/30)和6.67%(2/30), 差异未见统计学意义($\chi^2 = 1.450$, $P = 0.484$).

结论: 结肠镜检查前应用促胃肠动力药可以

■背景资料

目前有多种肠道准备清洁方法, 尚未有理想的方法达到结肠镜检查的满意程度, 尤其慢性便秘患者由于胃肠功能衰弱, 胃肠蠕动动力不足, 常导致肠道清洁功能减退. 通过改变胃肠动力, 促进胃肠排空, 能有效提高肠道清洁程度.

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

■ 研发前沿

本次研究中,由于主要研究了目前促胃肠动力药中具有代表性的莫沙比利,对其他促胃肠动力药未进行比较研究,不同促胃肠动力药其作用可能会存在差别,本次研究样本量小,对结果的解释的效力上可能存在不足。

有效提高肠腔的清洁程度,较大剂量应用效果较好。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结肠镜检查; 莫沙比利; 促胃肠动力药; 聚乙二醇醇类; 便秘

核心提示: 本次研究显示,促胃肠动力药莫沙比利在检查前1 d和检查前较大剂量服用后,清洁肠腔的效果较好,其不良反应发生率与其他组无明显差异;莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液联合使用的效果也较好,与刘超等的报告相同,Mine等动物试验也有相同报道,可能是莫沙比利作用后促使肠腔排便次数增加,减轻了肠腔内负担;改善肠动力有关,促进了肠腔蠕动,加速了肠腔内粪便的排出;可以与洗肠要共同发挥作用等方面有关。

曾捷, 王秋女, 冯维智, 何和钦. 促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2743-2747 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2743.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2743>

0 引言

结肠镜检查是对肠道疾病进行常规、安全、有效的定性诊断方法,而肠道清洁程度成为直接影响结肠镜检查质量的重要因素^[1,2]。目前有多种肠道准备清洁方法,尚未有理想的方法达到结肠镜检查的满意程度^[3],尤其慢性便秘患者由于胃肠功能衰弱,胃肠蠕动动力不足,常导致肠道清洁功能减退。通过改变胃肠动力,促进胃肠排空,能有效提高肠道清洁程度。本次研究采用促胃肠动力药在便秘患者结肠镜检查前肠道清洁中的作用,探讨改善肠道清洁程度的有效方法,提高患者结肠镜检查质量。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01-01/2012-12-31我院收治的门诊或住院主动申请做结肠镜检查的慢性便秘患者90例,其中男32例,女58例,年龄46-74岁,平均56.6岁±10.9岁。所有参与本次研究病例均知情,并签署知情同意书,经我院医学伦理委员会批准。患者符合病例纳入标准和排除标准。病例纳入标准参照中国慢性便秘诊治指南(2013年,武汉)标准^[3],病例诊断前≥6 mo,且近3 mo出现以下症状:排便次数每周<3次;排便有费力感、排便不尽或排除困难、或需要手法辅助排便。排便分级评分标准:排便次数≥3次/wk记为

1分,2次/wk记为2分,≤1次/wk记为3分。病例排除标准结肠镜检查前服用莫沙比利或者其他促胃肠动力剂者;结肠镜检查前8周服用抗精神病药、抗抑郁药、止泻药者;结肠肿瘤、肠梗阻或狭窄、肌肉疾病等;对本药成分过敏的患者;患者严重心、肺、肝、肾等疾病,舒张压>100 mmHg和/或收缩压>160 mmHg高血压患者;孕妇、哺乳期妇女。结肠镜检查在盲法控制下统一由1名副主任或以上职称的专业内镜医师检查和评估。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 研究设计采用随机对照试验。分组与方案所有入选对象采用随机数字表法分为A组, B组和C组, 每组30例。A组(聚乙二醇电解质溶液): 复方聚乙二醇电解质散。规格: 137.15 g/袋, 深圳万和制药有限公司, 国药准字H20030828。服用方法: 结肠镜检查前口服聚乙二醇电解质溶液常规肠道清洗剂, 检查前1 d进半流食物, 当日禁食, 检查前6 h服用复方聚乙二醇电解质溶液(137.15 g聚乙二醇+2000 mL无菌溶液), 于2 h内分次服完; B组采用促胃肠动力剂(枸橼酸莫沙比利片)+复方聚乙二醇电解质溶液作为肠道清洁剂枸橼酸莫沙比利片, 规格5 mg/片, 由成都大西南制药股份有限公司生产, 国药准字H20031110。服用方法: 检查前6 h服用15 mg, 30 min后服用复方聚乙二醇电解质溶液(配置和用量同A组)。C组(枸橼酸莫沙比利片)检查前1 d分别于7:00、12:00、20:00和结肠镜检查前检查前6 h口服15 mg枸橼酸莫沙比利片。其他用药各组间相同。

1.2.2 肠道清洁程度判断标准: 根据波士顿大学医学中心设计的肠道准备量表(the Boston bowel preparation scale, BBPS)测试患者肠道清洁程度^[4]。(1)肠道分为3个部分进行评分, 分别为左半结肠、横结肠和右半结肠;(2)各肠段清洁程度评分分为4级, 0分: 结肠内镜下见无法清除的大便, 结肠黏膜不清晰; 1分: 结肠内部分黏膜显示清晰, 部分因为粪便或者液体而显示不清; 2分: 结肠内镜下见黏膜显示清楚, 但可见少量固体粪便和不透明液体; 3分: 结肠内黏膜显示清楚, 未见粪便和不透明性液体;(3)肠道清洁总分为各结肠段评分之和, 0分表示肠道未进行清洁, 最高分9分表示最清洁。肠腔内气泡评估: 0分: 肠腔内几乎无气泡, 不需要冲洗即可以清楚观察; 1分: 肠腔内有少量的气泡, 影响观察效果, 需要进行肠腔内冲洗; 2分: 肠

表 1 3组慢性便秘患者一般情况的比较 ($n = 30$)

分组	年龄 (岁)	性别 (男/女)	身高 (cm)	体质量 指数	内镜检查(n)				便秘 评分
					正常	息肉	炎症反应	黑变	
A组	54.3 ± 9.8	10/20	165.3 ± 13.5	21.3 ± 2.7	12	5	9	4	1.9 ± 0.8
B组	56.4 ± 10.9	12/18	160.4 ± 18.9	20.6 ± 2.1	14	4	6	6	1.8 ± 0.9
C组	55.8 ± 11.0	10/20	157.9 ± 16.3	21.9 ± 2.8	13	4	8	5	1.9 ± 0.8
F/χ^2	0.314	0.388	1.584	1.950	1.316				0.144
P 值	0.732	0.824	0.211	0.148	0.971				0.866

■ 相关报道

对莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液不同组合效果也有研究认为, 莫沙比利与口服聚乙二醇溶液1.5 L组合的效果同聚乙二醇溶液2 L的组合相近, 但患者对药物的耐受性和可接受程度均较高, 减少了腹胀等不良反应的发生。

表 2 3组慢性便秘患者肠道清洁评分的比较 ($n = 30$)

分组	肠道清洁程度评分(波士顿)			总分
	右侧结肠	中断结肠	左侧结肠	
A组	1.92 ± 0.56	2.13 ± 0.50	2.17 ± 0.55	5.81 ± 1.19
B组	2.01 ± 0.59	2.11 ± 0.51	2.30 ± 0.56	6.65 ± 1.18 ^a
C组	2.41 ± 0.62 ^{ac}	2.48 ± 0.61 ^{ac}	2.56 ± 0.51 ^a	7.13 ± 1.12 ^a

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

表 3 3组患者不良反应发生情况的比较 ($n = 30$)

分组	恶心	呕吐	腹胀	腹痛	头晕
A组	2	1	1	2	0
B组	2	2	2	1	2
C组	1	1	1	0	0
P^1	1.000	1.000	1.000	0.770	0.326

¹确切概率法计算。

腔内存在大量气泡, 需要进行反复冲洗才能进行观察。

1.2.3 安全性评价观察指标: 于结肠镜检查前调查记录患者口服聚乙二醇电解质溶液和枸橼酸莫沙必利片情况, 服药后产生的不良反应发生情况, 如头昏、头疼、恶心、呕吐、腹胀、腹痛、疲倦感、过敏反应等。

统计学处理 统计学方法应用SPSS20.0统计软件包对数据进行处理分析。所有数据经正态性检验, 符合正态分布分部计量数据采用mean ± SD表示, 3组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用Benferroni检验; 计数资料组间比较采用 χ^2 检验。取双侧检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般情况的比较 90例患者全部按照结肠镜检查要求完成镜检, A、B、C 3组患者年

龄、性别、身高、体质量指数、结肠内镜诊断和便秘评分, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。

2.2 肠道清洁程度的评价 C、B组患者结肠清洁程度总分均高于A组, C组各肠断评分均高于A组, 其中右侧结肠和中断结肠清洁程度也优于B组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。C组排便总次数多于A组(7.15 ± 1.61 vs 6.54 ± 1.52), 差异有统计学意义($t = 2.724$, $P = 0.023$), 3组结肠腔内气泡情况差异未见统计显著性($F = 0.359$, $P = 0.699$)。

2.3 安全性评价 A、B、C 3组不良反应总发生率分别为16.67%(5/30)、13.33%(4/30)和6.67%(2/30), 差异未见统计学意义($P > 0.05$)。恶心、呕吐、腹胀、腹泻、头晕反应各组间未见明显统计学差异($P > 0.05$)(表3)。

3 讨论

随着饮食结构的改变和社会心理因素的影响, 慢性便秘患病率呈现不断增长趋势, 在我国成人中慢性便秘的患病率达4%-6%, 尤其是老年人的患病率更高, 60岁以上人群达22%^[5]。慢性便秘患者尤其是功能性便秘是慢性胃肠功能衰弱, 是肠道清洁效果不佳的主要人群。由于肠道清洁效果直接影响结肠镜检查时纳入检查的视野和对观察结果判断的准确性, 造成结肠镜检查疾病误诊、漏诊增加, 提高结肠镜检查前肠道清洁程度具有重要的意义。

■创新盘点

结肠镜检查前最佳肠道清洁准备除了肠腔内可视程度高,同时患者具有可接受性。莫沙比利在有利于胃排空,能较好的改善恶心、呕吐、腹胀等不良反应。

结肠镜检查常用的肠道清洁是聚乙二醇电解质溶液常规肠道清洗剂,也是结肠镜检查的基础用药,在口服聚乙二醇洗肠剂前加服促胃肠动力药,可以有效地改善胃肠清洁的质量。莫沙比利是目前应用较广、临床疗效较好的促胃肠动力药^[6],是一种苯并异恶唑衍生物,为5-羟色胺(5-hydroxytryptamine 4, 5-HT₄)受体激动药,用于治疗与慢性胃炎和功能性消化不良的胃肠道症状。通过与5-HT₄受体的作用,激活肠胆碱能神经元释放乙酰胆碱,刺激胃肠道而发挥动力作用^[7],他也是通过其主要代谢物M1(5-HT₃受体激动剂)增加结肠的动力,促进排便和增加排便量^[8-10]。在促胃肠动力药中,莫沙比力的作用类似于以前使用的5-HT₄受体激动剂西沙必利,但西沙必利由于其对心脏的不良反应较强,目前已经停止使用^[8],吴宗英等^[11]Meta分析伊托必利与莫沙比利作用相似。鉴于莫沙比利有效的胃肠效应作用及其临床应用广泛,本次选择其作为研究的促胃肠动力剂。

本次研究显示,促胃肠动力药莫沙比利在检查前1 d和检查前较大剂量服用后,清洁肠腔的效果较好,其不良反应发生率与其他组无明显差异;莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液联合使用的效果也较好,与刘超等^[12]的报告相同, Mine等^[13]动物试验也有相同报道,可能是莫沙比利作用后促使肠腔排便次数增加,减轻了肠腔内负担;改善肠动力有关,促进了肠腔蠕动,加速了肠腔内粪便的排出;可以与洗肠要共同发挥作用等方面有关。对莫沙比利与聚乙二醇电解质溶液不同组合效果也有研究认为,莫沙比利与口服聚乙二醇溶液1.5 L组合的效果同聚乙二醇溶液2 L的组合相近,但患者对药物的耐受性和可接受程度均较高,减少了腹胀等不良反应的发生^[14]。

结肠镜检查前最佳肠道清洁准备除了肠腔内可视程度高,同时患者具有可接受性^[15]。莫沙比利在有利于胃排空,能较好的改善恶心、呕吐、腹胀等不良反应,本次研究莫沙比利口服剂量15 mg是成人的慢性胃炎患者推荐的常用剂量,有报道由于莫沙比利对机体不良反应的影响呈剂量-反应关系,这方面的研究还有待进一步探讨,以寻求莫沙比利最佳剂量作为结肠镜检查最好的肠道准备方法。

本次研究中,由于主要研究了目前促胃肠动

力药中具有代表性的莫沙比利,对其他促胃肠动力药未进行比较研究,不同促胃肠动力药其作用可能会存在差别,本次研究样本量小,对结果的解释的效力上可能存在不足。不同剂量的促胃肠动力药和聚乙二醇电解质溶液组合,也是目前研究较为关注的方面,这方面的研究还有待进一步深入,以寻求最佳的组合效果提高结肠清洁程度,同时减少不良反应的发生。

4 参考文献

- 1 孙昕, 邹瑞珍, 王颖, 王园园, 王青, 李凌燕. 西甲硅油在结肠镜检查前肠道准备中的应用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 218-220
- 2 兰丽, 兰春慧, 曹艳, 李平, 赵敦勇, 陈东风. 3种肠道准备剂用于结肠镜检查的效果分析. 重庆医学 2011; 40: 1519-1521
- 3 任玲, 顾立扬, 李海燕, 宋燕, 李晓波. 伊托必利在改善便秘患者结肠镜前肠道准备中的作用. 中华消化杂志 2013; 33: 93-96
- 4 高燕, 张厚德, 林木贤, 程春生, 吴盛州, 朱岁松. Boston肠道准备量表应用的信度评估. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 78-80
- 5 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组, 中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组. 中国慢性便秘诊治指南(2013年, 武汉). 中华消化杂志 2013; 33: 291-293
- 6 Emmanuel A. Current management strategies and therapeutic targets in chronic constipation. *Therap Adv Gastroenterol* 2011; 4: 37-48 [PMID: 21317993 DOI: 10.1177/1756283X10384173]
- 7 李富军, 邹益友, 黄田辉. 促胃肠动力药对大鼠胃及十二指肠电活动的影响. 中南大学学报(医学版) 2009; 34: 599-561
- 8 Tajika M, Niwa Y, Bhatia V, Kawai H, Kondo S, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Hijioka S, Matsumoto K, Kobayashi Y, Saeiki A, Akabane A, Komori K, Yamao K. Efficacy of mosapride citrate with polyethylene glycol solution for colonoscopy preparation. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2517-2525 [PMID: 22654449 DOI: 10.3748/wjg.v18.i20.2517]
- 9 Cavalcante Moraes T, Cavalcante Lopes S, Bezerra Carvalho KM, Rodrigues Arruda B, Correia de Souza FT, Salles Trevisan MT, Rao VS, Almeida Santos F. Mangiferin, a natural xanthone, accelerates gastrointestinal transit in mice involving cholinergic mechanism. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3207-3214 [PMID: 22783044 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3207]
- 10 何宛蓉, 张法灿, 梁列新. 混合型5-HT₄受体激动剂/5-HT₃受体拮抗剂治疗肠易激综合征的系统评价. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3277-3283
- 11 吴宗英, 王一平, 曾超, 潘涛. 伊托必利与莫沙比利比较治疗功能性消化不良的系统评价. 中国循证医学杂志 2012; 12: 804-809
- 12 刘超, 李延青. 莫沙比利和聚乙二醇在肠镜检查前肠道准备中的联合应用价值研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 32-34
- 13 Mine Y, Morikage K, Oku S, Yoshikawa T, Shimizu I, Yoshida N. Effect of mosapride citrate hydrate on the colon cleansing action of polyethylene glycol electrolyte lavage solution (PEG-ELS) in guinea pigs. *J Pharmacol Sci* 2009; 110: 415-423 [PMID: 19602846]
- 14 Tajika M, Niwa Y, Bhatia V, Kondo S, Tanaka T, Mizuno N, Hara K, Hijioka S, Imaoka H, Komori

K, Yamao K. Can mosapride citrate reduce the volume of lavage solution for colonoscopy preparation? *World J Gastroenterol* 2013; 19: 727-735 [PMID: 23430381 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.727]

15 Bechtold ML, Choudhary A. Bowel preparation prior to colonoscopy: a continual search for excellence. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 155-157 [PMID: 23345936 DOI: 10.3748/wjg.v19.i2.155]

■同行评价
本文具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义

卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕 申, 李 岩

■背景资料

信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)3与多种恶性肿瘤发生发展密切相关, 持续活化的STAT3能促进肿瘤细胞增殖及浸润转移。上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是许多肿瘤侵袭和转移的一个重要过程。EMT可能与多种信号通路的异常激活有关。

卢书明, 陈美如, 刘丽娜, 大连医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省大连市 116011

宣金燕, 浙江省嘉兴市第二医院特需医疗部 浙江省嘉兴市 314000

吕申, 大连医科大学附属第二医院中心实验室 辽宁省大连市 116027

李岩, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

卢书明, 主治医师, 在读医学博士, 主要从事消化系统肿瘤临床与基础研究。

作者贡献分布: 此课题由卢书明与李岩设计; 实验操作及文献检索由卢书明、陈美如及宣金燕共同完成; 实验过程由刘丽娜与吕申指导完成; 论文由卢书明与李岩完成。

通讯作者: 李岩, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。yanli0227@126.com
电话: 024-96615-26111

收稿日期: 2013-05-28 修回日期: 2013-08-16

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma

Shu-Ming Lu, Mei-Ru Chen, Jin-Yan Xuan, Li-Na Liu, Shen Lv, Yan Li

Shu-Ming Lu, Mei-Ru Chen, Li-Na Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Jin-Yan Xuan, Department of Special Medical Care, the Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Shen Lv, Central Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, Liaoning Province, China

Yan Li, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Yan Li, Professor, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. yanli0227@126.com

Received: 2013-05-28 Revised: 2013-08-16

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To detect the expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in gastric carcinoma (GC) and to analyze their relationship

with epithelial-mesenchymal transition (EMT), tumor invasion and metastasis.

METHODS: The expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins in 53 GC specimens and matched normal gastric mucosal specimens was detected by immunohistochemistry. The correlation of expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins with clinicopathological parameters of GC was analyzed.

RESULTS: The positive rates of STAT3, p-STAT3 and Vimentin expression were significantly higher and that of E-cadherin was significantly lower in GC than that in normal gastric mucosal tissues (all $P < 0.01$). The expression of STAT3, p-STAT3, E-cadherin and Vimentin proteins was significantly correlated with tumor differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis and clinical stage (all $P < 0.05$), but not with gender, age, tumor size (all $P > 0.05$). STAT3 and p-STAT3 expression was negatively correlated with E-cadherin expression ($r = -0.360, -0.335; P = 0.008, 0.014$), but positively with Vimentin expression ($r = 0.443, 0.346; P = 0.001, 0.011$) in GC.

CONCLUSION: STAT3 and p-STAT3 protein expression is up-regulated in GC, and up-regulation of STAT3 and p-STAT3 protein expression in GC is significantly correlated with E-cadherin and Vimentin expression. These findings suggest that EMT may be mediated by the activation of the STAT3 signaling pathway.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; Signal transducer and activator of transcription 3; Epithelial-mesenchymal transition

Lu SM, Chen MR, Xuan JY, Liu LN, Lv S, Li Y. Relationship between STAT3 activation and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma. *Shijie*

■同行评议者

潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(26): 2748-2753 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2748.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2748>

wjgnet.com/1009-3079/21/2748.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2748>

摘要

目的: 探讨信号转导和转录活化因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)、p-STAT3蛋白在胃癌中表达与胃癌上皮间质转化的关系及其在胃癌浸润转移中的作用。

方法: 采用免疫组织化学方法检测53例胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白及上皮标志物E-钙粘蛋白(E-cadherin)和间质标志物波形蛋白(Vimentin)的表达, 分析其与胃癌临床病理特征间的关系及相互之间的相关性。

结果: STAT3、p-STAT3、Vimentin蛋白在胃癌组织中的阳性表达率明显高于其在正常胃黏膜中的阳性表达率, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$), 而E-cadherin在胃癌组织中的阳性表达率显著低于其在正常胃黏膜中的阳性表达率, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、临床分期均明显相关(均 $P < 0.05$), 而与性别、年龄、肿瘤大小无明显相关性($P > 0.05$)。STAT3、p-STAT3蛋白的表达和E-cadherin蛋白的表达均呈负相关($r = -0.360$, $P = 0.008$; $r = -0.335$, $P = 0.014$), STAT3、p-STAT3蛋白的表达与Vimentin蛋白的表达均呈正相关($r = 0.443$, $P = 0.001$; $r = 0.346$, $P = 0.011$)。

结论: STAT3和p-STAT3蛋白在胃癌中表达上调, 与E-cadherin及Vimentin蛋白的表达显著相关, 提示STAT3蛋白活化可能参与调节胃癌EMT。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 信号转导和转录活化因子3; 上皮间质转化

核心提示: 信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)信号通路异常活化后, 可能下调E-cadherin蛋白的表达, 上调Vimentin蛋白的表达, 进而参与调节胃癌EMT、促进胃癌的侵袭转移, 阻断STAT3通路可能成为胃癌治疗的新策略。

卢书明, 陈美如, 宣金燕, 刘丽娜, 吕中, 李岩. 信号转导与转录活化因子3与胃癌上皮间质转化的关系及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2748-2753 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2748.asp>

0 引言

近年来研究发现信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)3与多种恶性肿瘤发生发展密切相关, 持续活化的STAT3能促进肿瘤细胞增殖及浸润转移, 参与肿瘤血管生成以及免疫调节等过程^[1,2]。上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)指上皮细胞失去上皮特征而获得间质特征, 是许多肿瘤侵袭和转移的一个重要的过程, EMT可能与多种信号通路的异常激活有关^[3]。本研究检测胃癌组织中STAT3及其活化形式即磷酸化的STAT3(phosphorylated STAT3, p-STAT3)蛋白和上皮间质标志物E-钙粘蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)的表达, 分析其与胃癌临床病理特征的关系及其相互之间的相关性, 进而探讨STAT3信号通路激活在胃癌侵袭、转移及EMT中的作用及意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-2011年大连医科大学附属第一医院诊断明确的胃癌手术切除组织标本53例。其中男34例, 女19例; 年龄37-86岁, 中位年龄63岁, < 60 岁23例, ≥ 60 岁30例; 肿瘤大小: < 5 cm者28例, ≥ 5 cm者25例; 肿瘤浸润未达浆膜层者10例, 已达浆膜层者43例; 高中分化腺癌16例, 低分化腺癌18例, 黏液细胞癌19例, 无淋巴结转移者17例, 有淋巴结转移者36例; 采用2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)TNM分期标准: I-II期26例, III-IV期27例。所有病例均经术前和术后病理切片确诊, 术前均未接受放疗和化疗。另取因上消化道症状行胃镜检查活检并经病理证实的正常胃黏膜组织44例。鼠抗人STAT3多克隆抗体、羊抗人p-STAT3多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 鼠抗人Vimentin单克隆抗体、E-cadherin抗体即用型购自福建迈新生物有限公司, SP检测试剂盒及DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法: 采用免疫组织化学SP法染色, 所有标本经40 g/L的甲醛固定, 石蜡包埋, 以4 μ m厚连续切片, 进行脱蜡水化, 3%过氧化氢消除内源性过氧化物酶20 min, PBS冲洗3次, 每

■研究前沿

本研究探讨STAT3通路激活与胃癌EMT的关系, 有助于了解胃癌的侵袭转移的机制, 特异性阻断STAT3通路可望为胃癌的治疗提供新策略。

■相关报道

Okamoto等报道STAT3蛋白激活既有助于胃癌细胞的生存, 还有助于癌细胞的运动。而特异性阻断STAT3信号通路能够抑制胃癌细胞生长、诱导癌细胞周期停滞及诱导细胞凋亡, STAT3通路可能成为胃癌的潜在治疗靶点。

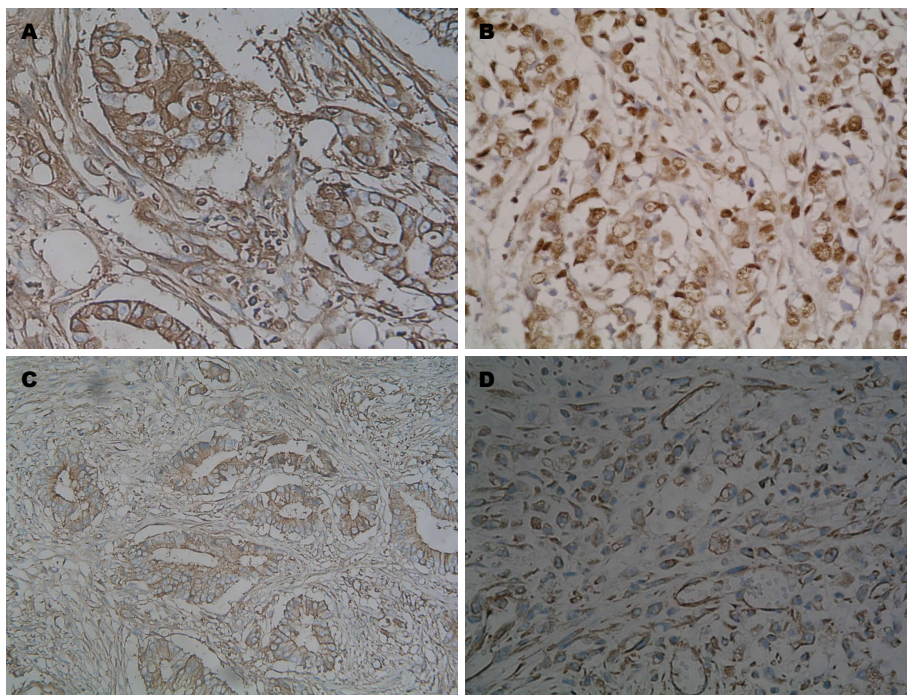


图1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白在胃癌组织中的阳性表达(SP × 400)。A: STAT3; B: p-STAT3; C: E-cadherin; D: Vimentin。STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白。

表1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达

分组	n	STAT3蛋白			p-STAT3蛋白			E-cadherin蛋白			Vimentin蛋白		
		+	%	P值	+	%	P值	+	%	P值	+	%	P值
胃癌	53	44	83.0	0.000	42	79.2	0.000	26	49.1	0.000	36	67.9	0.000
正常胃黏膜	44	10	22.7		8	18.2		43	97.7		7	15.9	

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白。

次3 min, 微波抗原修复10 min, 再PBS冲洗3次, 每次3 min, 正常山羊血清室温下封闭15 min, 滴加一抗(鼠抗人STAT3多克隆抗体、羊抗人p-STAT3多克隆抗体工作浓度均为1:500), 4℃冰箱过夜, PBS冲洗后加入生物素标记二抗, 37℃孵育30 min, PBS冲洗后滴加辣根过氧化物酶37℃孵育30 min, PBS冲洗3次, 每次3 min, DAB显色, 流水冲洗10 min, 苏木素复染, 脱水、透明, 中性树脂封片, 镜检。用已知阳性表达的组织切片作为阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.2.2 结果判断: 以细胞核或细胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性细胞。按阳性细胞所占的百分比及着色强度进行结果判定: (1)按着色强度评分: 0分为无着色; 1分为浅黄色; 2为黄色; 3分为棕黄色。(2)按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分: 0分为阴性, 1分为阳性细胞数≤10%, 2分为阳性细胞数11%-50%, 3分为阳性细胞数51%-75%, 4分为阳性细胞数>75%。取两项评分

之积作为总积分, 0-3分为阴性(-), 3分以上为阳性(+)。

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行数据分析。免疫组织化学结果采用 χ^2 检验、Fisher确切概率法, 相关性分析采用Spearman相关分析, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 STAT3、p-STAT3、E-cadherin及Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达 STAT3蛋白表达主要在细胞浆, 其在胃癌组织中阳性表达率(83.0%, 44/53)显著高于正常胃黏膜组织(22.7%, 10/44)($P<0.01$); p-STAT3蛋白表达在细胞核和细胞浆, 以细胞核为主, 其在胃癌组织中的阳性表达率(79.2%, 42/53)显著高于正常胃黏膜组织(18.2%, 8/44)($P<0.01$); E-cadherin蛋白表达主要在细胞膜和细胞浆, 在胃癌组织中的阳性表达率(49.1%, 26/53)显著低于正常胃黏膜

表 2 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌临床病理特征的关系

分组	n	STAT3蛋白			p-STAT3蛋白			E-cadherin蛋白			Vimentin蛋白		
		+	%	P值	+	%	P值	+	%	P值	+	%	P值
性别				1.000			1.000			0.569			1.000
男	34	28	82.4		27	79.4		18	52.9		23	67.6	
女	19	16	84.2		15	78.9		8	42.1		13	68.4	
年龄(岁)				0.478			0.501			0.785			0.772
<60	23	18	78.3		17	73.9		12	52.2		15	65.2	
≥60	30	26	86.7		25	83.3		14	46.7		21	70.0	
肿瘤大小(cm)				0.474			0.183			0.586			0.257
<5	28	22	78.6		20	71.4		15	53.6		17	60.7	
≥5	25	22	88.0		22	88.0		11	44.0		19	76.0	
浸润深度				0.053			0.023			0.039			0.008
未侵及浆膜	10	6	60.0		5	50.0		8	80.0		3	30.0	
侵及浆膜	43	38	88.4		37	86.0		18	41.9		33	76.7	
分化程度				0.002			0.001			0.018			0.003
高中分化	16	9	56.3		8	50.0		12	75.0		6	37.5	
低分化/黏液癌	37	35	94.6		34	91.9		14	37.8		30	81.1	
淋巴结转移				0.023			0.000			0.008			0.010
无	17	11	64.7		8	47.1		13	76.5		7	41.2	
有	36	33	91.7		34	94.4		13	36.1		29	80.6	
临床分期				0.050			0.015			0.029			0.008
I-II	26	18	76.9		17	65.4		17	65.4		13	50.0	
III-IV	27	26	96.3		25	92.6		9	33.3		23	85.2	

■创新盘点

有关STAT3通路是否参与调节胃癌EMT的研究报道较少. 本研究检测胃癌中STAT3、p-STAT3蛋白及上皮与间质标志物E-cadherin、Vimentin的表达, 探讨STAT3通路活化与胃癌EMT的关系及其在胃癌浸润转移中的作用.

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

表 3 胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性

		E-cadherin			n	r	P值	Vimentin			n	r	P值
		+	-					+	-				
STAT3	+	18	26	44	-0.360	0.008		34	10	44	0.443	0.001	
	-	8	1	9				2	7	9			
	n	26	27	53				36	17	53			
p-STAT3	+	17	25	42	-0.335	0.014		32	10	42	0.346	0.011	
	-	9	2	11				4	7	11			
	n	26	27	53				36	17	53			

STAT: 信号转导和转录活化因子; E-cadherin: E-钙粘蛋白; Vimentin: 波形蛋白.

组织(97.7%, 43/44)($P<0.01$); Vimentin蛋白表达在细胞浆及间质, 在胃癌组织中的阳性表达率(67.9%, 36/53)显著高于正常胃黏膜组织(15.9%, 7/44)($P<0.01$)(图1, 表1).

2.2 STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌临床病理学特征的关系
STAT3、p-STAT3、Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达随着浸润深度加深、分化程度降低、发生淋巴结转移及临床分期越高而表达增高, 组别间的差异均有统计学意义($P<0.05$); 而E-cad-

herin蛋白表达随着胃癌浸润深度加深、分化程度降低、发生淋巴结转移及临床分期越高而表达减少, 差异均有统计学意义($P<0.05$); STAT3、p-STAT3、E-cadherin、Vimentin蛋白的表达与胃癌患者性别、年龄、肿瘤大小均无明显相关性($P>0.05$)(表2).

2.3 胃癌组织中STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin、Vimentin蛋白表达的相关性分析
胃癌组织中STAT3蛋白表达与E-cadherin蛋白表达呈负相关($r = -0.360$, $P = 0.008$), 与Vimentin蛋白的表

■应用要点

研究结果显示STAT3和p-STAT3蛋白在胃癌中表达上调,与E-cadherin及Vimentin蛋白的表达显著相关,提示STAT3蛋白活化可能参与调节胃癌EMT,为进一步揭示胃癌侵袭转移的机制及通过阻断信号通路治疗胃癌提供理论依据。

达呈正相关($r = 0.443, P = 0.001$); p-STAT3蛋白表达与E-cadherin蛋白表达呈负相关($r = -0.335, P = 0.014$),与Vimentin蛋白的表达呈正相关($r = 0.346, P = 0.011$)(表3)。

3 讨论

STAT3是STATs家族的重要成员之一,是Janus激酶(Janus kinase, JAK)/STAT信号传导通路中的关键信号因子,在受到生长因子、细胞因子等细胞外信号刺激后,以活化的p-STAT3形式进入细胞核中,启动相应靶基因的转录,进而发挥其对细胞增殖、凋亡等的调控作用^[1]。研究发现在多种恶性肿瘤标本及肿瘤细胞株中存在STAT3的异常表达与激活,并发现STAT3与肿瘤的增殖分化、细胞凋亡、血管生成、侵袭转移密切相关,并可能作为预测肿瘤预后的指标^[4,5]。

Yakata等^[6]报道人胃癌组织中及MKN28和SCH两种人胃癌细胞株中有STAT3蛋白的组成性激活, p-STAT3蛋白的表达与胃癌的浸润、淋巴结转移密切相关,同时发现p-STAT3阳性表达患者预后更差, Xiong等^[7]也报道p-STAT3可成为预测胃癌预后的分子生物学标记。本研究发现胃癌组织中STAT3蛋白和p-STAT3蛋白的表达远高于正常胃黏膜组织($P < 0.01$),进一步分析STAT3及p-STAT3蛋白表达与胃癌临床病理特征的关系,发现随着胃癌分化程度降低、浸润深度增加、发生淋巴结转移及TNM分期升高, STAT3和p-STAT3蛋白的表达表达明显增加,两者的表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移及TNM分期密切相关($P < 0.05$),提示STAT3蛋白激活不仅可能与胃癌的发生有关,还可能在胃癌的进展中发挥重要作用。STAT3蛋白激活可能是胃癌发生及发展中的一个关键事件^[8]。Okamoto等^[9]报道STAT3蛋白激活既有助于胃癌细胞的生存,还有助于癌细胞的运动。沉默STAT3基因能够抑制胃癌细胞的生长^[10],还可诱导抗肿瘤免疫效应,联合自杀基因治疗可增加抗肿瘤效果^[11],一些药物通过抑制STAT3信号通路进而抑制胃癌细胞生长、诱导癌细胞周期停滞及诱导细胞凋亡, STAT3可望成为胃癌治疗的潜在靶点。

EMT与恶性肿瘤的浸润转移密切相关。肿瘤发生EMT的一个重要特征就是在上皮标志物如E-cadherin和Cytokeratin等表达减少,而间质标志物如N-cadherin和Vimentin等表达增加。E-cadherin是一种主要的上皮细胞黏附分子,为钙依赖性跨膜糖蛋白,介导细胞间黏附被、参

与细胞的信号转导,而且发现与肿瘤的侵袭和转移行为密切相关,目前认为E-cadherin是一种肿瘤抑制基因,其表达减少或缺失可能使癌细胞易从原发灶脱落向外周浸润性生长进而发生侵袭转移^[12]。我们研究发现E-cadherin蛋白在胃癌组织中表达较其在正常胃黏膜表达相比明显下降, E-cadherin蛋白表达与胃癌浸润和淋巴结转移密切相关,提示E-cadherin胃癌的浸润转移中可能起重要作用。

Vimentin主要分布于间叶组织及细胞,在维持和调节细胞功能中发挥着重要作用,其表达增多使得细胞骨架结构变化,上皮源性细胞由立方形变为纺锤形纤维样细胞,更易于迁移游动,而细胞骨架结构的变化可干扰信号传导系统的正常工作,可导致细胞生物学性状改变,如黏附性下降,运动能力增强^[3]。研究发现Vimentin在上皮性肿瘤尤其是低分化癌中表达增高,而且与肿瘤浸润及淋巴结转移密切相关,在体外实验中发现癌细胞中间质细胞形态的出现、维持以及癌细胞的侵袭力,需要Vimentin蛋白的参与^[13]。本研究发现Vimentin蛋白在胃癌组织中的表达明显高于其在正常胃黏膜组织中的表达,且Vimentin蛋白的表达胃癌的分化、浸润、淋巴结转移及临床分期均明显相关,提示Vimentin蛋白表达增高可能参与胃癌的发生、浸润和转移。Otsuki等^[14]报道胃癌组织Vimentin mRNA的表达与胃癌的复发或远处转移有关,而且Vimentin mRNA表达越高的患者预后越差,单因素分析显示Vimentin mRNA与胃癌患者预后有关,但多因素分析显示Vimentin mRNA不是独立预后因子。我们发现胃癌组织中E-cadherin表达减少, Vimentin表达增加,且与胃癌浸润、淋巴结转移、临床分期等均相关,提示胃癌细胞发生EMT,进而参与胃癌的浸润、转移。有研究显示抑制肿瘤细胞的EMT可阻止肿瘤浸润和转移过程,将为肿瘤的治疗带来希望。

研究发现EMT过程涉及到多种基因的改变,也与多种信号通路的异常激活有关,如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号途径、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号途径、核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路等^[3]。近来报道STAT3通路可能参与恶性肿瘤的EMT发生过程。LO等^[15]发现表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)/表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,

EGFR)信号通路可通过STAT3通路上调*Twist*基因表达来诱导多种癌细胞的EMT. Colomiere等^[16]报道EGF可激活JAK2/STAT3通路进而诱导卵巢癌细胞的EMT, 而阻断STAT3通路的激活不影响EGF诱导的卵巢癌细胞形态的变化, 但可抑制癌细胞的运动、Vimentin、N-cadherin蛋白的表达以及IL-6的产生. 本研究显示, STAT3、p-STAT3蛋白与E-cadherin蛋白的表达呈负相关, 与Vimentin蛋白的表达呈正相关, 提示胃癌中EMT的发生可能与STAT3信号通路的激活相关. STAT3信号通路异常活化后, 可能下调E-cadherin蛋白的表达, 上调Vimentin蛋白的表达, 最终诱导胃癌的EMT发生. STAT3通路激活可能参与调节胃癌细胞EMT, 进而促进胃癌的侵袭转移, 阻断STAT3通路可能成为胃癌治疗的新策略, 但尚需进一步研究.

4 参考文献

- Devarajan E, Huang S. STAT3 as a central regulator of tumor metastases. *Curr Mol Med* 2009; 9: 626-633 [PMID: 19601811 DOI: 10.2174/156652409788488720]
- Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem* 2007; 282: 20059-20063 [PMID: 17502367 DOI: 10.1074/jbc.R700016200]
- Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]
- Sato T, Neilson LM, Peck AR, Liu C, Tran TH, Witkiewicz A, Hyslop T, Nevalainen MT, Sauter G, Rui H. Signal transducer and activator of transcription-3 and breast cancer prognosis. *Am J Cancer Res* 2011; 1: 347-355 [PMID: 21776434]
- Huang C, Huang R, Chang W, Jiang T, Huang K, Cao J, Sun X, Qiu Z. The expression and clinical significance of pSTAT3, VEGF and VEGF-C in pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasma* 2012; 59: 52-61 [PMID: 22082308 DOI: 10.4149/neo_2012_007]
- Yakata Y, Nakayama T, Yoshizaki A, Kusaba T, Inoue K, Sekine I. Expression of p-STAT3 in human gastric carcinoma: significant correlation in tumour invasion and prognosis. *Int J Oncol* 2007; 30: 437-442 [PMID: 17203226]
- Xiong H, Du W, Wang JL, Wang YC, Tang JT, Hong J, Fang JY. Constitutive activation of STAT3 is predictive of poor prognosis in human gastric cancer. *J Mol Med (Berl)* 2012; 90: 1037-1046 [PMID: 22328012 DOI: 10.1007/s00109-012-0869-0]
- Giraud AS, Menheniott TR, Judd LM. Targeting STAT3 in gastric cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 889-901 [PMID: 22834702 DOI: 10.1517/14728222.2012.709238]
- Okamoto W, Okamoto I, Arao T, Yanagihara K, Nishio K, Nakagawa K. Differential roles of STAT3 depending on the mechanism of STAT3 activation in gastric cancer cells. *Br J Cancer* 2011; 105: 407-412 [PMID: 21730976 DOI: 10.1038/bjc.2011.246]
- 童强, 舒晓刚, 卢晓明, 黎维勇, 陶凯雄, 陈道达, 王国斌. shRNA干扰STAT3基因表达对胃癌细胞MKN-45体内外生物学特性的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 6: 1568-1572
- Ahn YH, Yi H, Shin JY, Lee KD, Shin SP, Lee SJ, Song J, Chun KH. STAT3 silencing enhances the efficacy of the HSV.tk suicide gene in gastrointestinal cancer therapy. *Clin Exp Metastasis* 2012; 29: 359-369 [PMID: 22350508]
- Stănculescu D, Mărgăritescu C, Stepan A, Mitruț AO. E-cadherin in gastric carcinomas related to histological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 1107-1112 [PMID: 22119833]
- Vasko V, Espinosa AV, Scouten W, He H, Auer H, Liyanarachchi S, Larin A, Savchenko V, Francis GL, de la Chapelle A, Saji M, Ringel MD. Gene expression and functional evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in papillary thyroid carcinoma invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 2803-2808 [PMID: 17296934 DOI: 10.1073/pnas.0610733104]
- Otsuki S, Inokuchi M, Enjoji M, Ishikawa T, Takagi Y, Kato K, Yamada H, Kojima K, Sugihara K. Vimentin expression is associated with decreased survival in gastric cancer. *Oncol Rep* 2011; 25: 1235-1242 [PMID: 21327330 DOI: 10.3892/or.2011.1185]
- Lo HW, Hsu SC, Xia W, Cao X, Shih JY, Wei Y, Abbruzzese JL, Hortobagyi GN, Hung MC. Epidermal growth factor receptor cooperates with signal transducer and activator of transcription 3 to induce epithelial-mesenchymal transition in cancer cells via up-regulation of TWIST gene expression. *Cancer Res* 2007; 67: 9066-9076 [PMID: 17909010 DOI: 10.1158/0008-5472]
- Colomiere M, Ward AC, Riley C, Trenerry MK, Cameron-Smith D, Findlay J, Ackland L, Ahmed N. Cross talk of signals between EGFR and IL-6R through JAK2/STAT3 mediate epithelial-mesenchymal transition in ovarian carcinomas. *Br J Cancer* 2009; 100: 134-144 [PMID: 19088723 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604794]

■同行评价

本课题设计合理、方法恰当、数据分析充分, 写作态度严谨, 具有较高的学术价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利



儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效

张 晴, 宋家英, 胡绍举, 程 洁, 敖仇波

■背景资料

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)属于消化科较为多见的一类病症,主要表现为上腹部的持续性疼痛,在空腹时加重。研究认为,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是造成PU发病的主要危险因素。随着研究的深入,目前临床上发现儿童PU的发病率亦有逐年升高的趋势。

张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波, 六盘水市人民医院儿科 贵州省六盘水市 553001

张晴, 副主任医师, 主要从儿科方面的研究和临床工作。

作者贡献分布: 此课题由张晴设计; 研究过程由张晴与宋家英完成; 数据分析由胡绍举、程洁及敖仇波完成; 写作由张晴、宋家英、胡绍举、程洁及敖仇波共同完成。

通讯作者: 张晴, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山区钟山西路56号, 六盘水市人民医院儿科. zhangqing_gz@163.com

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-08-08

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-18

Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer

Qing Zhang, Jia-Ying Song, Shao-Ju Hu, Jie Cheng, Chou-Bo Ao

Qing Zhang, Jia-Ying Song, Shao-Ju Hu, Jie Cheng, Chou-Bo Ao, Department of Pediatrics, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Qing Zhang, Associate Chief Physician, Department of Pediatrics, Liupanshui People's Hospital, Zhongshan Distract, 56 Zhongshanwest Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. zhangqing_gz@163.com
Received: 2013-07-15 Revised: 2013-08-08
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To observe the clinical effect and safety of small dose clarithromycin (CLA)-based triple therapy in the treatment of children peptic ulcer (PU).

METHODS: Seventy-five children with PU were divided into three groups to receive small dose CLA-based triple therapy (A), large dose CLA-based triple therapy (B) and amoxicillin-based triple therapy (C). After treatment, abdominal pain relief, rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication and adverse reactions were observed and compared among the three groups.

RESULTS: Three days after treatment, pain score declined obviously in all three groups. Two weeks after treatment, abdominal pain was relieved in all children. The rate of *H. pylori* eradication did not differ significantly between groups A, B and C (96.0%, 96.0%, 92.0%, all $P >$

0.05). The effective rate was significantly higher in groups A and B than in group C (92.0%, 88.0% vs 72.0%, both $P < 0.05$), but showed no significant difference between groups A and B ($P > 0.05$). The rate of adverse reactions (mainly nausea, vomiting, poor appetite and mild diarrhea) was significantly lower in group A than in groups B and C (8.0% vs 20.0%, 24.0%, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Although all three types of therapy possess a high rate of *H. pylori* eradication and can quickly relieve abdominal pain, small dose CLA-based triple therapy has a lower rate of adverse reactions and therefore can be used as the first choice of treatment for children PU.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Clarithromycin; Triple therapy; Children; Peptic ulcer

Zhang Q, Song JY, Hu SJ, Cheng J, Ao CB. Clinical effect of small dose clarithromycin-based triple therapy in treatment of children peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2754-2758 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2754>

摘要

目的: 观察小剂量克拉霉素三联疗法治疗儿童消化性溃疡的疗效及安全性。

方法: 选取75例诊断为消化性溃疡(peptic ulcer, PU)的儿童, 治疗方案分别为小剂量克拉霉素三联疗法(A组)、大剂量克拉霉素三联疗法(B组)、羟氨苄青霉素三联疗法(C组)。观察各组患儿治疗后腹痛缓解情况、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)以及不良反应等。

结果: 腹痛进行疼痛评分, 3组患儿经过治疗后, 腹痛程度在治疗后3 d即出现明显的下降, 所有患儿在14 d后腹痛均缓解。A、B、C组患儿*H. pylori*根除率分别为96.0%、92.0%、96.0%, 3组进行统计学分析, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 但A组稍高于B组。治疗有效率方面, A、B、C组分别为92.0%、88.0%、

■同行评议者

施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

72.0%, A、B组明显高于C组($P<0.05$), A、B组之间差异无统计学意义($P>0.05$), 但A组稍高于B组. 不良反应方面, 恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻是服药期间主要的不良反应. A、B、C组患儿不良反应率分别为8.0%、20.0%、24.0%, A组明显低于B、C组, 差异均有统计学意义($P<0.05$).

结论: 3种治疗方案均有较高的*H. pylori*根除率, 均能较快缓解患儿腹痛, 小剂量克拉霉素治疗有效率高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 克拉霉素; 三联疗法; 儿童; 消化性溃疡

核心提示: 本研究采用以含克拉霉素的质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)三联疗法对PU患儿进行临床治疗, 并通过对比高、低剂量克拉霉素以及含羟氨苄青霉素的PPI三联疗法, 观察各治疗方案在缓解患儿腹痛, 根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)等方面的作用. 首先, 我们对治疗后各组患儿*H. pylori*根除情况进行了比较, 可以发现3组患儿的*H. pylori*根除率均较高, 都超过90%. 通过各组间比较, 发现差异无统计学意义. 说明以PPI为基础的三联疗法, 临床根除*H. pylori*的作用较好, 但小剂量组稍高于大剂量组.

张晴, 宋家英, 胡绍举, 程洁, 敖仇波. 儿童消化性溃疡小剂量克拉霉素治疗的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2754-2758
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2754>

0 引言

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)属于消化科较为多见的一类病症, 主要表现为上腹部的持续性疼痛, 在空腹时加重^[1]. 研究认为^[2], 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是造成PU发病的主要危险因素. 随着研究的深入, 目前临床上发现儿童PU的发病率亦有逐年升高的趋势. 当前治疗上, 由于缺乏统一的儿童PU治疗标准, 因此对于儿童PU的临床治疗, 往往参考成人治疗方案进行^[3]. 由于儿童与成人存在较大的个体差异, 特别在药物剂量的使用方面, 大多均为经验性治疗. 我院采用小剂量克拉霉素三联疗法治疗儿童PU, 取得了较好的临床疗效, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究共纳入PU患儿75例, 均为我院

2012-01/2013-01间门诊及住院患儿. 所有入组患儿均已经胃镜检查, 诊断为消化系溃疡, 病程为2-24 mo. 其中胃溃疡16例, 十二指肠溃疡59例, 临床主要表现为反复发作的不同程度上腹部或脐周疼痛. 部分患儿并发腹胀、纳差、消化系出血及胃食管反流等. 根据治疗方案的不同进行临床分组观察, 每组各25例. A组治疗方案为小剂量克拉霉素三联疗法, 男17例, 女8例, 年龄6-14岁, 平均年龄(9.3 ± 3.8)岁; B组治疗方案为大剂量克拉霉素三联疗法, 男18例, 女7例, 年龄7-15岁, 平均年龄(9.4 ± 3.7)岁; C组治疗方案为羟氨苄青霉素三联疗法, 男17例, 女8例, 年龄8-15岁, 平均年龄(9.3 ± 3.5)岁. 对3组患儿性别、年龄等资料进行统计学分析, 差异无统计学意义($P>0.05$), 有可比性. 纳入标准: (1)反复上腹部疼痛; (2)胃镜检查后提示存在活动期消化性溃疡; (3)活检或病理组织染色, 确诊存在*H. pylori*感染; (4)入组前14 d内未进行任何*H. pylori*根除治疗; (5)肝肾功能无明显异常; (6)无大环内酯类或青霉素类药物无过敏史. 排除标准: (1)不能配合完成治疗疗程; (2)服药期间存在严重不良反应.

1.2 方法 根据患儿体质量确定各药物的使用剂量, 其中小剂量克拉霉素用量为7.5 mg/kg, 大剂量克拉霉素用量为15 mg/kg, 羟氨苄青霉素用量为30 mg/kg, 奥美拉唑用量为0.7 mg/kg, 甲硝唑用量为15 mg/kg. A组: 7.5 mg/kg克拉霉素, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝唑, 每日2次; B组: 15 mg/kg克拉霉素, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝唑, 每日2次; C组: 羟氨苄青霉素用量为30 mg/kg, 每日2次, 0.7 mg/kg奥美拉唑, 每日1次, 15 mg/kg甲硝唑, 每日2次. 各组均连续服药7 d.

1.2.1 观察指标: (1)腹痛程度评分标准: 无痛: 0分; 轻度疼痛: ≤ 3 分; 中度疼痛: 4-6分; 重度疼痛: 7-10分; (2)*H. pylori*根除标准: 治疗结束后28 d, 对患儿进行¹³C-尿素呼气试验(urea breath test, UBT), ¹³C-UBT $\leq 40\%$ 认为*H. pylori*完全根除; (3)不良反应: 主要观察治疗期间, 各组患儿恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻等情况的发生数, 并计算比例.

1.2.2 疗效评定: 治愈: 患儿症状、体征消失, 胃镜示溃疡面完全愈合, 慢性胃炎无典型的黏膜斑、充血、水肿及糜烂; 好转: 患儿症状、体征较治疗前明显好转, 胃镜示溃疡面基本愈合, 慢性胃炎黏膜斑、充血、水肿及糜烂等情况减轻;

■ 研发前沿

当前治疗上, 由于缺乏统一的儿童PU治疗标准, 因此对于儿童PU的临床治疗, 往往参考成人治疗方案进行. 由于儿童与成人存在较大的个体差异, 特别在药物剂量的使用方面, 大多均为经验性治疗.

■相关报道

黄敬等对>5岁的PU患者进行了为期5年的临床观察,发现早期*H. pylori*根治后,溃疡再发几率极其少见。

表 1 3组患儿治疗后3 mo胃镜结果比较 ($n = 25$)

分组	治愈	好转	无效	有效率(%)
A组	15	8	2	92.0
B组	11	11	3	88.0
C组	8	10	7	72.0 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

表 2 3组患者腹痛缓解情况比较 ($n = 25$, mean \pm SD)

分组	治疗前	治疗3 d	治疗1 wk
A组	2.76 \pm 1.31	1.99 \pm 0.93 ^a	0.81 \pm 0.42 ^{ac}
B组	2.68 \pm 1.44	2.02 \pm 0.91 ^a	0.83 \pm 0.37 ^{ac}
C组	2.81 \pm 1.53	1.85 \pm 1.01 ^a	0.78 \pm 0.35 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 治疗3 d. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

表 3 3组患儿不良反应发生率比较 ($n = 25$)

分组	恶心	呕吐	胃纳差	轻度腹泻	发生率(%)
A组	1	0	1	0	8.0 ^{ac}
B组	1	1	2	1	20.0
C组	2	1	2	1	24.0

^a $P < 0.05$ vs B组; ^c $P < 0.05$ vs C组. A组: 为小剂量克拉霉素三联疗法; B组: 大剂量克拉霉素三联疗法; C组: 羟氨苄青霉素三联疗法.

无效: 患儿症状、体征无改善或加重, 胃镜胃镜示溃疡面无明显愈合倾向. 以治愈加有效例数除以各组总例数, 为治疗总有效率.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料用mean \pm SD表示, 计数资料用百分率表示, 组间计量资料比较采用两样本 t 检验, 组间计数资料的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 3组患儿*H. pylori*根除率比较 经过治疗, A、B、C组患儿*H. pylori*根除率分别为96.0%、92.0%、96.0%, 3组进行统计学分析, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 但A组稍高于B组.

2.2 3组患儿治疗后3 mo胃镜结果比较 经过3 mo的治疗, A、B、C组患儿治疗有效率分别为92.0%、88.0%、72.0%, A、B组明显高于C组($P < 0.05$), A、B组之间差异无统计学意义

($P > 0.05$), 但A组稍高于B组(表1).

2.3 3组患者腹痛缓解情况比较 治疗前, 3组患儿均有不同程度的腹痛, 腹痛评分差异比较无统计学意义($P > 0.05$), 治疗3、7 d后, 各组患儿腹痛评分均出现明显下降($P < 0.05$), 治疗后14 d, 所有患儿腹痛均完全缓解(表2).

2.4 3组患儿不良反应发生率比较 恶心、呕吐、胃纳差以及轻度腹泻等情况是药物服用期间主要的不良反应, 经过统计, A、B、C组治疗期间不良反应发生率分别为8.0%、20.0%、24.0%, A组明显低于B、C组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, 表3).

3 讨论

近年小儿反复慢性腹痛发病率呈现逐渐升高的趋势, 临床上对小儿消化性溃疡的研究证明, *H. pylori*感染是消化性溃疡的主要致病因素, 是除肠道寄生虫病或肠痉挛外引发小儿慢性反复发作性腹痛的重要因素, 并常导致溃疡愈合延迟或复发. 目前关于儿童PU的临床研究认为, 早期根治*H. pylori*不仅提高了患儿PU痊愈率, 也大大降低了PU并发症以及复发率^[4]. 黄敬等^[5]对>5岁的PU患者进行了为期5年的临床观察, 发现早期*H. pylori*根治后, 溃疡再发几率极其少见. 由于*H. pylori*属于导致胃癌发病的一个重要危险因素, 因此, 早期根除*H. pylori*, 亦能达到预防远期胃癌发生的情况. 目前的药物治疗表明^[6], 三联疗法具有较高的*H. pylori*根除率. 但是, 药物仍存

在较大的不良反应. 对于PU患儿而言, 由于机体的耐受能力不如成年人, 一些药物不良反应尤为明显^[7]. 因此, 能够达到有效治疗PU并降低不良反应发生率效果的用药方案是临床医师普遍研究的内容.

临床研究证实, 在PU患儿的治疗中, 采用以质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)与铋剂的三联疗法, 可以取得较高的临床疗效, *H. pylori*的根除率亦较高^[8,9]. 此外, 患儿对三联疗法的耐受力较好. 杨粉婵等^[10]分别采用PPI两联及三联疗法根除*H. pylori*, 结果提示三联疗法*H. pylori*根除率明显高于二联疗法, 而且PPI剂量与根除*H. pylori*之间没有明显的关联. 随着我国PU发病率的不断升高, 我国对于*H. pylori*的临床研究亦有了较大的进步. 特别是¹³C-UBT检测的使用, 使得*H. pylori*检测具有较高的敏感性与特异性^[11]. 此外, 由于¹³C-UBT检查属于非侵入性, 因此患儿的接受程度较高. 另外, ¹³C属于稳定性较高的一种核素, 不存在任何放射性污染, 因此不会对患儿造成较大的影响^[12]. 国外研究证实^[13], ¹³C-UBT检查可以实时反应胃的状态, 被认为是监测临床药物根治*H. pylori*的金标准, 具有较高的可靠性. 但是, ¹³C-UBT检测的成本较高, 一般很少多次检查, 本研究仅在疗效评定是进行了应用.

本研究采用以含克拉霉素的PPI三联疗法对PU患儿进行临床治疗, 并通过对比高、低剂量克拉霉素以及含羟氨苄青霉素的PPI三联疗法, 观察各治疗方案在缓解患儿腹痛, 根除*H. pylori*等方面的作用. 首先, 我们对治疗后各组患儿*H. pylori*根除情况进行了比较, 可以发现3组患儿的*H. pylori*根除率均较高, 都超过90%. 通过各组间比较, 发现差异无统计学意义. 说明以PPI为基础的三联疗法, 临床根除*H. pylori*的作用较好, 但小剂量组稍高于大剂量组. 表明*H. pylori*根除率与克拉霉素或羟氨苄青霉素无明显的联系, 但小剂量较大剂量临床效果稍好. 治疗有效率方面, 通过3 mo后的胃镜检查, 可以发现克拉霉素的PPI三联疗法, 其有效率明显高于羟氨苄青霉素. 而对大、小剂量的克拉霉素组进行分析, 发现剂量对治疗有效率无明显的影响, 但小剂量组稍高于大剂量组, 也表明小剂量较大剂量更具优势. 患儿腹痛方面, 研究提示患儿大都处于轻度上腹部疼痛, 3种治疗方案均能在短期内缓解患儿的腹痛, 在治疗后的3、7 d, 患儿腹痛评分呈现明显的下降趋势. 在治疗后3、7 d进行3

组间腹痛评分比较, 差异无统计学意义. 治疗后14 d, 3组所有患儿的腹痛均得到完全缓解, 说明3种治疗方案在缓解PU患儿方面, 均有着较高的疗效. 表明PPI是起到缓解腹痛的主要药物. 不良反应发生率方面, A、B、C组分别为8.0%、20.0%、24.0%, 小剂量组明显低于大剂量组和羟氨苄青霉素组, 差异均有统计学意义. 表明小剂量的克拉霉素PPI三联疗法具有最少的不良反应发生率, 而且对于*H. pylori*的根除率无明显的影响, 另外用药剂量小也减轻了患儿家庭治疗费用负担, 更据临床应用优势. 目前的研究认为^[14,15], 治疗PU患者的理想治疗方案在于能够达到以下3点: (1)*H. pylori*根除率 $\geq 90\%$; (2)服药期间各类不良反应发生较好; (3)治疗简单、时间短. 通过本研究, 可以发现小剂量克拉霉素三联疗法完全能够达到上述三种标准.

总之, 3种治疗方案均有较高的*H. pylori*根除率, 均能较快缓解患儿腹痛. 小剂量克拉霉素治疗有效率较高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

4 参考文献

- 1 苏林, 王歆琼, 许春娣. 524例儿童上消化道疾病胃镜检查结果分析. 诊断学理论与实践 2012; 11: 494-497
- 2 李万鹏. 儿童消化性溃疡临床诊治分析. 现代中西医结合杂志 2011; 20: 2549-2550
- 3 Majima Y, Kurono Y, Hirakawa K, Ichimura K, Haruna S, Suzuki H, Kawauchi H, Takeuchi K, Naito K, Kase Y, Harada T, Moriyama H. Efficacy of combined treatment with S-carboxymethylcysteine (carbocysteine) and clarithromycin in chronic rhinosinusitis patients without nasal polyp or with small nasal polyp. *Auris Nasus Larynx* 2012; 39: 38-47 [PMID: 21636230]
- 4 罗玲玲, 张磊, 许建明, 胡咏梅, 卢春燕, 王志化. 左氧氟沙星三联7 d方案和标准三联10 d方案初次根除幽门螺杆菌的疗效观察. 安徽医科大学学报 2012; 47: 845-848
- 5 黄敬, 龚四堂, 区文玟, 潘瑞芳, 耿岚岚, 黄海, 何婉儿, 陈佩瑜, 刘丽英, 周丽雅. 10日序贯疗法根除儿童幽门螺杆菌感染的临床研究. 中华儿科杂志 2012; 50: 563-567
- 6 刘凤林, 甄丽娜, 赵煜, 夏志伟, 司徒爱明, 张书红. 序贯疗法和标准三联疗法根除儿童幽门螺杆菌的疗效观察. 临床儿科杂志 2011; 29: 925-928
- 7 Sugimoto H, Ito M, Hatano M, Nakanishi Y, Maruyama Y, Yoshizaki T. A case of chronic otitis media caused by *Mycobacterium abscessus*. *Auris Nasus Larynx* 2010; 37: 636-639 [PMID: 20206453 DOI: 10.1016/j.aml.2010.01.010]
- 8 许立德, 房晓祎, 郭继忠, 陈楚虹, 崔霞. 儿童消化系统疾病致再发性腹痛的临床特点. 世界华人消化杂志 2003; 11: 2045-2046
- 9 张庆芳, 沙卫红, 王启仪. 克拉霉素为基础的三联方案根除幽门螺杆菌的疗效研究. 胃肠病学 2012; 17: 480-482
- 10 杨粉婵, 李建文. 泮托拉唑三联短期疗法治疗幽门螺

■应用要点

小剂量克拉霉素治疗有效率较高, 且不良反应率明显低于其他两组, 可以作为儿童PU治疗的首选方案.

■同行评价

本研究对临床医师有一定的参考价值。

- 杆菌阳性消化性溃疡临床分析. 中国药物与临床 2012; 12: 955-956
- 11 王迎昕, 陈锡美, 朱凤尚, 韩英, 王邦茂, 周永宁, 詹丽, 王吉林. 注射用尼扎替丁治疗消化性溃疡出血205例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1963-1967
- 12 张万岱, 陈治水, 危北海. 消化性溃疡的中西医结合治疗方案. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2687-2689
- 13 周虹, 吕农华. 幽门螺杆菌与消化性溃疡并出血的研

究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1063-1066

- 14 Vermot D, Entenza JM, Vouillamoz J, Glauser MP, Moreillon P. Efficacy of clarithromycin versus that of clindamycin for single-dose prophylaxis of experimental streptococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 809-811 [PMID: 8851620]
- 15 张凤玉, 黄晓曦. 序贯疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效观察. 中国全科医学 2010; 13: 3813-3814

编辑 黄新珍 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄缘 教授
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

刘正稳 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

虞必光 教授
遵义医学院附属医院

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王阔 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

肖秀英 主治医师
上海市徐汇区中心医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：

2012年1月

图书馆



Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

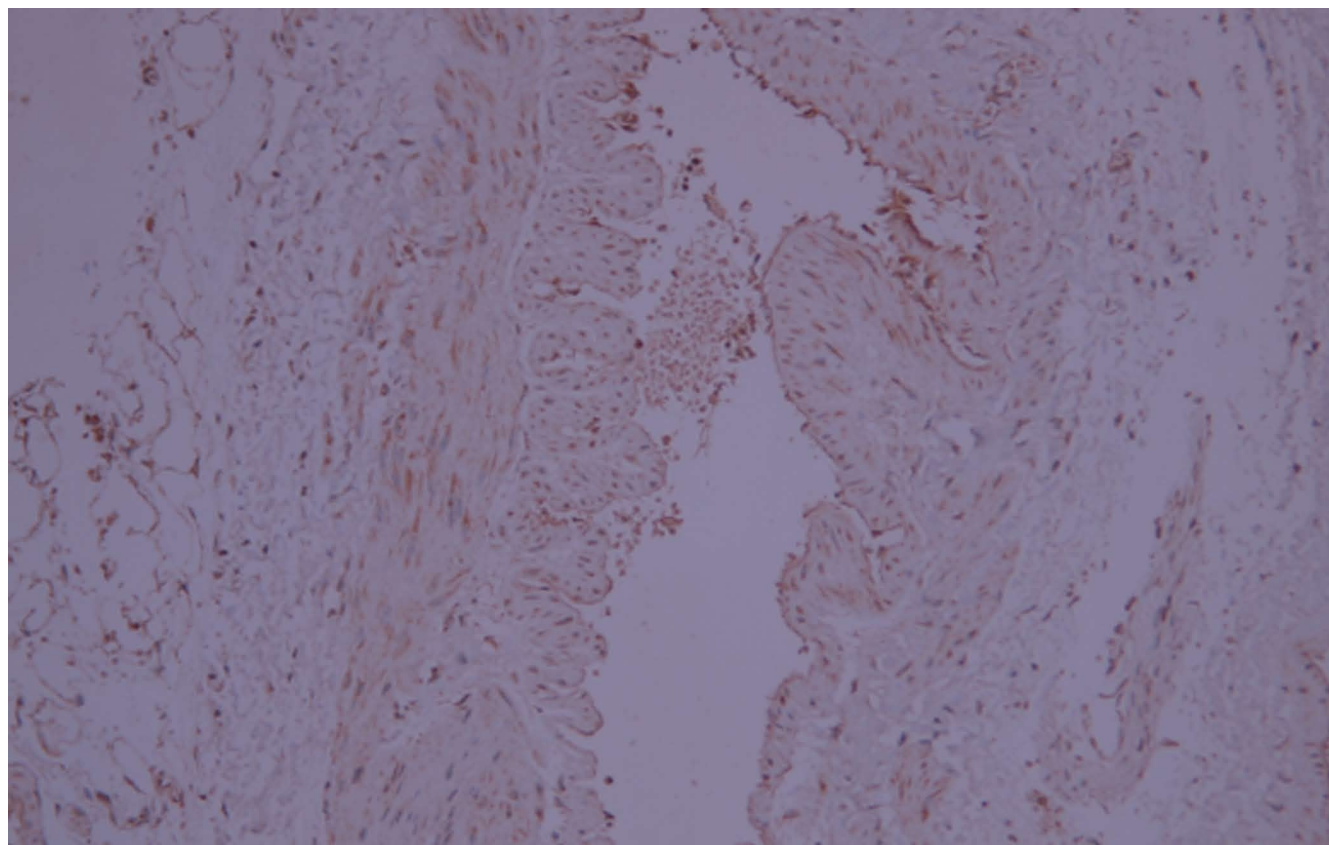


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 9 月 28 日 第 21 卷 第 27 期 (Volume 21 Number 27)



27/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄国教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年9月28日 第21卷 第27期 (总第431期)

述 评	2759 代谢综合征与慢性肝病 石毓君, 步宏
基础研究	2765 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响 黄蔚, 钱静蓉 2772 小干扰RNA靶向抑制 <i>DcR3</i> 基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响 苏传丽, 罗殿中, 陈昱, 覃新干
文献综述	2780 肝脏分段解剖学的研究进展 刘巧云, 马心逸, 喻智勇 2787 维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展 舒祥兵, 宋海燕, 季光 2792 微生态制剂与炎症性肠病 张峰睿, 缪应雷 2802 溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展 刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳 2808 超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用 邢珺, 张开光
研究快报	2815 慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达 索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩 2820 转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立 王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩
临床经验	2826 胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例 张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰 2832 RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性 石千, 田德安, 何星星, 廖家智 2838 PHB1 mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达 黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰 2843 中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例 何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 张英辉, 李孟森 2849 超声造影灌注诊断多种类型肝转移癌55例 张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东 2854 HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性 刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 鹿裕 2860 胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗 李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普 2865 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义 金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明 2870 结直肠癌 <i>AREG</i> 基因的表达与甲基化水平 吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿 2875 MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响 张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁 2881 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例 张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华 2886 大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征 张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯 2890 儿童消化系重复畸形诊治19例 李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌
病例报告	2894 Felty综合征合并肝硬化1例 俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	2764 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2771 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2786 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2807 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2814 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2825 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2831 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2848 《世界华人消化杂志》栏目设置 2864 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2874 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2880 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2765-2771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-09-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 27

EDITORIAL	2759 Metabolic syndrome and chronic liver diseases <i>Shi YJ, Bu H</i>
BASIC RESEARCH	2765 Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy <i>Huang W, Qian JR</i> 2772 SiRNA-mediated inhibition of <i>DcR3</i> gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells <i>Su CL, Luo DZ, Chen G, Qin XG</i>
REVIEW	2780 Advances in research of segmental anatomy of the liver <i>Liu QY, Ma XY, Yu ZY</i> 2787 Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease <i>Shu XB, Song HY, Ji G</i> 2792 Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease <i>Zhang FR, Miao YL</i> 2802 Ulcerative colitis and intestinal flora <i>Liu YT, Hao WW, Li NN, Wen HZ, Cao LJ, Li J</i> 2808 Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions <i>Xing J, Zhang KG</i>
RAPID COMMUNICATION	2815 Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation <i>Suo JY, Xu H, Bi SY, Zhang X, Zheng Q</i> 2820 Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the <i>ETS1</i> gene and their stable transfection of PANC-1 cell line <i>Wang ZH, Wang CL, Chen R, Zhou M, Chen Y</i>
CLINICAL PRACTICE	2826 Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases <i>Zhang HQ, Xie M, He B, Lu S, Wan YY, Song RF</i> 2832 Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma <i>Shi G, Tian DA, He XX, Liao JZ</i> 2838 Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis <i>Huang DF, Huang JF, Zhang H, Huang XP, Wei Q, Li F</i> 2843 Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases <i>He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Zhang YH, Li MS</i> 2849 Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases <i>Zhang GD, Zou DD, Wang H, He Y, Huang D</i> 2854 Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi <i>Liu F, Li GJ, Wu JZ, Wu JL, Chen WQ, Ma SS, Hu DF, Ning QY, Pang Y</i> 2860 Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation <i>Li T, Chai XQ, Li JJ, Wu JW, Meng YP</i> 2865 Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma <i>Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M</i> 2870 Expression and promoter methylation of <i>AREG</i> in colorectal neoplasms <i>Wu T, Zhao Y, Li D, He HM, Li N, Zhang Y, Zhao DY</i> 2875 Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation <i>Zhang LJ, Wu CP, Zhang ZY, Liu B, Fan ZB, Pei YB, Zhao ZR</i> 2881 Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases <i>Zhang ZZ, Yu JH, Liu G, Liao DX, Luo CH</i> 2886 Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation <i>Zhang HT, Zhao XZ, Sun H, Li K</i> 2890 Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases <i>Li H, Yin XM, Cui H, Zhang AH, Meng B</i>

CASE REPORT	2894 Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature <i>Yu LM, Chen JL, Lv B</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Huang W, Qian JR</i> . Effects of valsartan on portal hypertensive gastropathy rats of portal vein TGF- β 1 and collagen fibers. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(27): 2765-2771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

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

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

代谢综合征与慢性肝病

石毓君, 步宏

石毓君, 四川大学华西医院, 卫生部移植工程与移植免疫重点实验室 四川省成都市 610041

步宏, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041

石毓君, 副研究员, 硕士研究生导师, 主要从事移植病理学、肝细胞再生等研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170424

作者贡献分布: 石毓君负责查阅文献和文章的撰写; 步宏协助指导和文章修改。

通讯作者: 石毓君, 副研究员, 610041, 四川省成都市高新区科园4路1号, 四川大学华西医院, 卫生部移植工程与移植免疫重点实验室. shiyujun@scu.edu.cn

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Metabolic syndrome and chronic liver diseases

Yu-Jun Shi, Hong Bu

Yu-Jun Shi, Key Laboratory of Transplant Engineering and Transplant Immunology, Ministry of Health, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Hong Bu, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of China, No. 81170424

Correspondence to: Yu-Jun Shi, Associate Professor, Key Laboratory of Transplant Engineering and Transplant Immunology, Ministry of Health, West China Hospital, Sichuan University, 1 Keyuan Si Road, Gaoxin District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. shiyujun@scu.edu.cn

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

Drastic changes in diet and lifestyle as well as rapid population aging in China have made the morbidity of metabolic syndrome (MetS) quite close to the levels of industrialized countries. MetS is one of the highest risk factors for cardiovascular diseases; accumulating epidemiological data also show that MetS is an independent risk factor of the development of chronic liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The synergism between MetS and HBV infection is considered to robustly increase the morbidity and mortality of end-stage liver diseases, and this needs particular attention because of the huge HBV-positive

population in China. The purpose of this review is to discuss the association between MetS and the development of end-stage liver diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Metabolic syndrome; Non-alcoholic fatty liver disease; Chronic liver cirrhosis; Hepatocellular carcinoma

Shi YJ, Bu H, Metabolic syndrome and chronic liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2759-2764 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2759>

摘要

饮食结构和生活方式的剧变以及日益突出的人口老龄化, 使我国代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)发病率已相当接近工业化国家水平. MetS是罹患心脑血管疾病的高危因素, 而越来越多的流行病学资料显示MetS还是导致慢性肝硬化及肝细胞肝癌的独立危险因素. 加之我国HBV携带者人数众多, 如果合并MetS势必将加大患者发生终末期肝病的风 险, 尤其需要引起高度重视. 本文将就MetS与慢性终末期肝病的相关性进行阐述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 代谢综合征; 非酒精性脂肪性肝病; 慢性肝硬化; 肝细胞肝癌

核心提示: 代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)是慢性终末期肝病的独立危险因素, 其发病率在我国已接近工业化国家和地区, 加之乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)的高携带率, 使罹患慢性肝病的高风险人口基数相当惊人. 有必要开展大规模临床试验并加强基础研究, 阐明MetS患者发生慢性肝病的高危因素并深入探讨其机制, 尤其是本身具有基础肝病者.

石毓君, 步宏. 代谢综合征与慢性肝病. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2759-2764 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2759>

■背景资料

越来越多的临床研究发现MetS是慢性终末期肝病的独立危险因素. 随着人口老龄化和饮食结构的改变, 我国居民罹患MetS的人口比例已相当接近欧美工业化国家水平, MetS在导致国民慢性终末期肝病中的作用需要得到足够重视.

■同行评议者

唐南洪, 教授, 福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

■ 研发前沿

本文介绍了MetS的定义和流行病学资料,重点综述了MetS作为慢性终末期肝病的独立危险因素的临床研究证据,简要介绍了MetS导致慢性终末期肝病的机制及其干预措施。

0 引言

多种原因可导致肝细胞损伤,因肝细胞本身再生能力极强,一些急性损伤可通过肝再生短期内使肝细胞数量和功能完全恢复^[1-3]。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染、长期肝毒性物质(如酒精)暴露等,肝脏遭受持续性损伤,则常发展为慢性进行性肝病。至终末期,多表现为肝纤维化、肝硬化甚至原发性肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。HBV的持续感染和迁延不愈是引起国人肝病慢性进行性发展及HCC的最主要因素^[4-6]。而在欧美工业化国家,HCV感染是引起慢性终末期肝病的首要原因,但在美国仅约半数HCC与病毒感染或长期酗酒有关,另有20%-50%HCC病因不清^[7]。越来越多的大样本临床试验发现,与病毒感染并无直接关联的众多因素可能是肝硬化及HCC发生的独立危险因素。其中最为重要的就是代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)^[8-14]。

1 代谢综合征的定义及流行病学

MetS是多种代谢成分异常聚集的病理状态,是一组复杂的代谢紊乱症候群,临床表现为中心性肥胖、血压升高、糖耐量降低或糖尿病、血脂水平紊乱,是导致糖尿病(diabetes mellitus, DM)、心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的危险因素。随着研究的深入,目前MetS涵盖的范畴越来越多,还包括多囊卵巢综合征、高胰岛素血症或高胰岛素原血症、高纤维蛋白原血症和纤溶酶原激活物抑制物-1增高、高尿酸血症、内皮细胞功能紊乱-微量白蛋白尿和炎症等。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)可能是MetS的最主要原因。IR指正常数量的胰岛素不足以产生对脂肪细胞、肌肉细胞和肝细胞正常的胰岛素响应的状况,故MetS又可称为“胰岛素抵抗综合征”^[15,16]。2005年国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)颁布了MetS诊断标准:中心性肥胖(西方男性和女性腰围分别 ≥ 94 cm和 ≥ 80 cm,华人男性和女性腰围分别 ≥ 90 cm和 ≥ 80 cm)且符合以下2项者,(1)高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)-C:男性 <1.04 mmol/L、女性 <1.29 mmol/L,或已接受相应治疗;(2)TG >1.7 mmol/L或已接受相应治疗;(3)血压 $\geq 130/85$ mmHg,或已接受相应治疗;(4)空腹血糖 ≥ 5.6 mmol/L,或此前已诊断为2型糖尿病。根据上述标准,美国20岁以上成年人中约有40%可诊断为MetS患者,男性略多

于女性^[17]。在饮食结构和生活方式骤变,人口老龄化日益突出的当下,我国MetS患者人数骤升。中国疾控中心2008年报道为6000万例,中华医学会糖尿病分会2008年对14省市调查显示,男女性患病率分别为16.7%和11.7%,而WHO数据显示香港地区发病率更是高达21%。

MetS受累器官众多,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)被认为是MetS的肝脏组份(NAFLD is the hepatic component of metabolic syndrome)。综合多个中心发表的数据,工业化国家和地区(其中一个数据来自上海市)NAFLD患者已超过成年人口的1/3,位居各种肝病的首位^[18-20],也是导致慢性终末期肝病的最重要原因^[21]。中国内分泌协会近期报道,国人NAFLD患病率约为15%-30%^[22]。越来越多的证据表明,美国的那些20%-50%病因不清的HCC患者就大多由NAFLD及其继发的非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)引起。NASH引起的终末期肝病是目前美国肝移植的第3位原因,预计到2020年将成为肝移植的首要原因^[23,24]。

2 代谢综合征是肝硬化的独立危险因素

NAFLD如合并病毒感染将加速病情进展。30%-70%的慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者伴有肝脂肪变,其进展为肝硬化的速度加快,同时对聚乙二醇干扰素和利巴韦林治疗的病毒学应答明显降低,与HCV基因型无关^[25]。基因1型和4型HCV感染者,IR与高病毒载量和严重的肝硬化相关;基因3型HCV则可直接导致肝脂肪变^[26]。国人终末期肝病90%以上为HBV相关性^[27],MetS是否参与了慢性肝硬化发生发展呢?来自杭州^[28]和台湾^[29]的两项大规模临床研究观察了慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和MetS的关系。在杭州($n = 7437$)和台湾($n = 53528$)的HBsAg阳性者中的MetS患病率分别为11.5%和12.6%,略低于对照人群。肝脂肪变与体质指数(body mass index, BMI)、腰围、糖尿病和血脂异常等多个MetS指标相关,而病毒因素(HBeAg状态和HBV DNA载量)并不是CHB患者肝脂肪变发生的危险因素。CHB似乎并不增加患MetS的风险,那么MetS是否增加CHB患者肝纤维化的风险呢?杭州的试验发现伴MetS的CHB患者51%出现“可能的肝硬化”,无MetS者仅为29%;“很可能的肝硬化”在有和无MetS者中分别为24%和11%。在接受肝活检的

病例中, 伴MetS者39%为肝硬化, 而无MetS者仅为11%。香港中文大学通过对1466例CBH患者进行前瞻性队列研究也证实了MetS是CBH患者肝硬化的独立危险因素, 伴发MetS者罹患肝硬化的风险更高, MetS组分越多者肝硬化的风险越大^[30]。

3 代谢综合征与HCC发生发展密切相关

美国近期开展的一项临床试验中, 纳入了16448例HCC患者(有效病例数为3649)和195953例健康对照, 结果显示HCC患者中MetS发病率明显高于普通人群(37.1% vs 17.1%), 校正多因素回归分析表明MetS显著增加了罹患HCC的风险^[31]。北欧一项纳入578700例成年人的前瞻性试验中发现, BMI、血糖水平以及MetS综合评分(composite MS score)与HCC发生率成正相关^[32]。人们已经注意到IR或MetS与HCV感染相关HCC密切相关^[33,34]。国内东方肝胆外科医院最近报道, 在179例HBV相关HCC患者中, 其平均BMI、血糖、胰岛素水平和胰岛素抵抗明显高于对照组^[35]。有报道指出肥胖使罹患HCC的风险增加2-5倍, 远高于肥胖对其他肿瘤的影响^[36]; 而糖尿病则能使该风险增加一倍。台湾的一个研究报道甚至认为肥胖与糖尿病能成百倍地增加HBV/HCV感染者罹患HCC的风险^[37]。此外, 多项临床试验还证实了MetS中的多个独立指标(如尿酸水平), 与肝硬化和HCC的发生发展密切相关^[38,39]。MetS患者发生HCC时可能并无明显的肝硬化改变^[40-42]。MetS甚至可以影响HCC患者的预后, 伴MetS者发生肿瘤转移、复发的可能性增大, 其原因可能与浸润转移相关信号通路的激活有关。可见, 以MetS为主的多种复杂因素参与了肝病慢性进行性过程, 与HCC发生、发展及预后密切相关。

4 代谢综合征致肝细胞损伤机制及干预

MetS的肝损伤主要表现为NAFLD及NASH, 随着病程进展, 肝细胞发生脂肪变性, 严重者出现肝细胞坏死, 进而导致坏死性炎症, 肝细胞代偿性增殖, 纤维组织增生, 肝脏组织结构被破坏重构, 最后发展为肝纤维化甚至HCC^[43]。人们普遍用所谓“二次打击”甚至“多重打击”学说来解释NAFLD^[44-47]。肝细胞脂肪变性, 饱和和游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)、游离胆固醇(free cholesterol, FC)、超长链多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)等过度沉积; 由于

脂肪变性的肝细胞活力下降, 产生的氧化代谢产物增多引发氧化应激, 直接或间接地激活JNK信号通路或者线粒体/溶酶体细胞死亡通路, 使得脂肪变性的肝细胞发生坏死; 进而肝脏内非实质细胞(Kupffer细胞、肝星状细胞、内皮细胞等)活化, 分泌大量细胞因子或炎症介质, 肝组织出现炎症、坏死甚至纤维化。事实上, MetS时肝细胞还受到肝外有害因素的攻击。内脏脂肪被认为是肿瘤坏死因子- α 、巨噬细胞趋化蛋白(macrophage chemoattractant protein-1, MCP-1)等炎症介质的来源。此外, 循环中的淋巴细胞释放的大量炎症介质以及肠源性内毒素等都可能通过先天性免疫系统, 参与肝细胞损伤。

MetS所致肝损伤的治疗仍然缺乏特异有效的手段, 目前主要采取系统性治疗方案, 如减体重、体育锻炼、改变饮食习惯、控制血糖、改善胰岛素抵抗、降血脂等。此外, 平衡肝细胞脂代谢、抑制氧化应激反应、抑制炎症反应、改善肠道菌群等的策略也成为研究热点^[44,48-53]。

5 结论

肝脏通常仅仅被看作是MetS的靶器官。然而, 肝脏是糖、脂肪、蛋白质3大营养物质的代谢中心。肝细胞功能的异常将直接导致多种营养物质的代谢障碍。IR是MetS的核心事件, 其本身就包括了肝细胞自身IR: 肝细胞表面胰岛素受体(insulin receptor, InsR)下调, 合成存储糖原能力下降进而导致血糖升高。因此肝细胞的病变也极可能是引起MetS的重要原因^[54,55]。NASH甚至被看作是MetS的使动因素^[56]。肝脏在MetS发生发展中的作用目前还知之甚少, 值得深入探讨。

在饮食结构、生活方式发生巨大变化和人口老龄化日益突出的当下, 我国MetS患者人数激增, 单独罹患2型糖尿病、高血压、血脂紊乱的人口数量均超过1亿例。近年来美国HCC发病率并未随着HCV感染者数量的下降而下降, 反而逐年上升, MetS成为其中最主要原因。我国MetS发病率已相当接近工业化国家水平, 加之HBV感染者人数众多, 这些高危因素的共同存在使罹患慢性肝病的高风险人口基数相当惊人。目前国内已开展的临床试验纳入病例数还较少, 尤其对无病毒感染的MetS患者发生慢性肝病的重视程度还非常薄弱。有必要开展大规模的临床试验和加强基础研究, 阐明MetS患者发生慢性肝病的高危因素并深入探讨其机制, 尤其是本身具有基础肝病者。

■ 相关报道

国外关于MetS所致慢性肝病研究报道较多。国内范建高等于第三届全国肝病治疗进展与临床药理学学术研讨会(2009年)上介绍了《代谢综合征、非酒精性脂肪性肝病与慢性乙型肝炎》, 2013年在中华肝脏病杂志发表了《加强代谢综合征与肝病关系及其对策的研究》。

■创新盘点

已有不少研究性论文报道了MetS与慢性终末期肝病的相关性,本文首次对这些报道进行了综述,并结合国内研究现状,介绍了MetS合并乙型肝炎病毒感染对慢性终末期肝病的影响。

6 参考文献

- 1 Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66 [PMID: 9082986 DOI: 10.1126/science.276.5309.60]
- 2 Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 836-847 [PMID: 15459664 DOI: 10.1038/nrm1489]
- 3 Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004; 39: 1477-1487 [PMID: 15185286 DOI: 10.1002/hep.20214]
- 4 Yu MC, Yuan JM. Environmental factors and risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S72-S78 [PMID: 15508106 DOI: 10.1016/j.gastro.2004.09.018]
- 5 Merican I, Guan R, Amarapuka D, Alexander MJ, Chutaputti A, Chien RN, Hasnain SS, Leung N, Lesmana L, Phiet PH, Sjalfoellah Noer HM, Sollano J, Sun HS, Xu DZ. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1356-1361 [PMID: 11197043 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2000.0150121356.x]
- 6 Tsai JF, Jeng JE, Ho MS, Chang WY, Hsieh MY, Lin ZY, Tsai JH. Effect of hepatitis C and B virus infection on risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Br J Cancer* 1997; 76: 968-974 [PMID: 9328161 DOI: 10.1038/bjc.1997.493]
- 7 Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1372-1380 [PMID: 15521006 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.07.020]
- 8 Rosmorduc O. Relationship between hepatocellular carcinoma, metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: which clinical arguments? *Ann Endocrinol (Paris)* 2013; 74: 115-120 [PMID: 23597944 DOI: 10.1016/j.ando.2013.02.008]
- 9 Turati F, Talamini R, Pelucchi C, Polesel J, Franceschi S, Crispo A, Izzo F, La Vecchia C, Boffetta P, Montella M. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma risk. *Br J Cancer* 2013; 108: 222-228 [PMID: 23169288 DOI: 10.1038/bjc.2012]
- 10 Vullierme MP, Paradis V, Chirica M, Castaing D, Belghiti J, Soubrane O, Barbare JC, Farges O. Hepatocellular carcinoma--what's new? *J Visc Surg* 2010; 147: e1-e12 [PMID: 20595072 DOI: 10.1016/j.jvisurg.2010.02.003]
- 11 Takamatsu S, Noguchi N, Kudoh A, Nakamura N, Kawamura T, Teramoto K, Igari T, Arii S. Influence of risk factors for metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease on the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 609-614 [PMID: 18613418]
- 12 Siegel AB, Zhu AX. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma: two growing epidemics with a potential link. *Cancer* 2009; 115: 5651-5661 [PMID: 19834957 DOI: 10.1002/cncr.24687]
- 13 Farges O, Ferreira N, Dokmak S, Belghiti J, Bedossa P, Paradis V. Changing trends in malignant transformation of hepatocellular adenoma. *Gut* 2011; 60: 85-89 [PMID: 21148580 DOI: 10.1136/gut.2010.222109]
- 14 Faulds MH, Dahlman-Wright K. Metabolic diseases and cancer risk. *Curr Opin Oncol* 2012; 24: 58-61 [PMID: 22123235 DOI: 10.1097/CCO.0b013e32834e0582]
- 15 Gallagher EJ, Leroith D, Karnieli E. The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes. *Med Clin North Am* 2011; 95: 855-873 [PMID: 21855696 DOI: 10.1016/j.mcna.2011.06.001]
- 16 Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 2011; 9: 48 [PMID: 21542944 DOI: 10.1186/1741-7015-9-48]
- 17 Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640-1645 [PMID: 19805654 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644]
- 18 Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005; 42: 44-52 [PMID: 15895401]
- 19 Minervini MI, Ruppert K, Fontes P, Volpes R, Vizzini G, de Vera ME, Gruttadauria S, Miraglia R, Pipitone L, Marsh JW, Marcos A, Gridelli B, Demetris AJ. Liver biopsy findings from healthy potential living liver donors: reasons for disqualification, silent diseases and correlation with liver injury tests. *J Hepatol* 2009; 50: 501-510 [PMID: 19155086 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.030]
- 20 Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Lu YS, Li L, Dai F, Li F, Chen SY. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1825-1832 [PMID: 16336439 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.04058.x]
- 21 McCullough AJ. Epidemiology of the metabolic syndrome in the USA. *J Dig Dis* 2011; 12: 333-340 [PMID: 21091931 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00469.x]
- 22 Gao X, Fan JG; Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Related Metabolic Disorders: Consensus by the Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. *J Diabetes* 2013 Apr 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23560695 DOI: 10.1111/1753-0407.12056]
- 23 Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* 2010; 51: 1820-1832 [PMID: 20432259 DOI: 10.1002/hep.23594]
- 24 Rosmorduc O, Fartoux L. HCC and NASH: how strong is the clinical demonstration? *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 202-208 [PMID: 22326764 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.12.011]
- 25 El-Zayadi AR, Anis M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to anti viral therapy. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 212-224 [PMID: 22294824 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.212]
- 26 Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, Sobesky R, Martinot-Peignoux M, Maylin S, Nicolas-Chanoine MH, Paradis V, Vidaud M, Valla D, Bedossa P, Marcellin P. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level,

- and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 416-423 [PMID: 18164296 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.010]
- 27 Lim YS, Kim WR. The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 733-746, vii [PMID: 18984463 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.007]
 - 28 Luo B, Wang Y, Wang K. Association of metabolic syndrome and hepatitis B infection in a Chinese population. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 238-240 [PMID: 17316590 DOI: 10.1016/j.cca.2007.01.012]
 - 29 Jan CF, Chen CJ, Chiu YH, Chen LS, Wu HM, Huang CC, Yen MF, Chen TH. A population-based study investigating the association between metabolic syndrome and hepatitis B/C infection (Keelung Community-based Integrated Screening study No. 10). *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: 794-799 [PMID: 16404404 DOI: 10.1038/sj.ijo.0803204]
 - 30 Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan HY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Metabolic syndrome increases the risk of liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Gut* 2009; 58: 111-117 [PMID: 18832522 DOI: 10.1136/gut.2008.157735]
 - 31 Welzel TM, Graubard BI, Zeuzem S, El-Serag HB, Davila JA, McGlynn KA. Metabolic syndrome increases the risk of primary liver cancer in the United States: a study in the SEER-Medicare database. *Hepatology* 2011; 54: 463-471 [PMID: 21538440 DOI: 10.1002/hep.24397]
 - 32 Borena W, Strohmaier S, Lukanova A, Bjørge T, Lindkvist B, Hallmans G, Edlinger M, Stocks T, Nagel G, Manjer J, Engeland A, Selmer R, Häggström C, Tretli S, Concin H, Jonsson H, Stattin P, Ulmer H. Metabolic risk factors and primary liver cancer in a prospective study of 578,700 adults. *Int J Cancer* 2012; 131: 193-200 [PMID: 21805476 DOI: 10.1002/ijc.26338]
 - 33 Hung CH, Wang JH, Hu TH, Chen CH, Chang KC, Yen YH, Kuo YH, Tsai MC, Lu SN, Lee CM. Insulin resistance is associated with hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C infection. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2265-2271 [PMID: 20458764 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2265]
 - 34 Khattab MA, Eslam M, Mousa YI, Ela-adawy N, Fathy S, Shatat M, Abd-Aalhalim H, Kamal A, Sharawe MA. Association between metabolic abnormalities and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Ann Hepatol* 2012; 11: 487-494 [PMID: 22700630]
 - 35 Zhao J, Zhao Y, Wang H, Gu X, Ji J, Gao C. Association between metabolic abnormalities and HBV related hepatocellular carcinoma in Chinese: a cross-sectional study. *Nutr J* 2011; 10: 49 [PMID: 21569630 DOI: 10.1186/1475-2891-10-49]
 - 36 Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348: 1625-1638 [PMID: 12711737 DOI: 10.1056/NEJMoa021423]
 - 37 Chen CL, Yang HI, Yang WS, Liu CJ, Chen PJ, You SL, Wang LY, Sun CA, Lu SN, Chen DS, Chen CJ. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology* 2008; 135: 111-121 [PMID: 18505690 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.073]
 - 38 Afzali A, Weiss NS, Boyko EJ, Ioannou GN. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. *Hepatology* 2010; 52: 578-589 [PMID: 20683957 DOI: 10.1002/hep.23717]
 - 39 Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. *Gut* 2005; 54: 533-539 [PMID: 15753540 DOI: 10.1136/gut.2004.052167]
 - 40 Bullock RE, Zaitoun AM, Aithal GP, Ryder SD, Beekingham IJ, Lobo DN. Association of non-alcoholic steatohepatitis without significant fibrosis with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 685-686 [PMID: 15464253]
 - 41 Ertle J, Dechêne A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, Gerken G, Syn WK, Canbay A. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-2443 [PMID: 21128245 DOI: 10.1002/ijc.25797]
 - 42 Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, Guedj N, Degos F, Vilgrain V, Bedossa P, Belghiti J. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 2009; 49: 851-859 [PMID: 19115377 DOI: 10.1002/hep.22734]
 - 43 Sugimoto K, Takei Y. Clinicopathological features of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2011; 41: 911-920 [PMID: 21951869 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00867.x]
 - 44 Farrell GC, van Rooyen D, Gan L, Chitturi S. NASH is an Inflammatory Disorder: Pathogenic, Prognostic and Therapeutic Implications. *Gut Liver* 2012; 6: 149-171 [PMID: 22570745 DOI: 10.5009/gnl.2012.6.2.149]
 - 45 Kawada N, Otagawa K. Role of oxidative stress and Kupffer cells in hepatic fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S85-S86 [PMID: 17567475 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04661.x]
 - 46 Fan J, Zhong L, Wang G, Wu X, Li M, Jing D, Zhang P. The role of Kupffer cells in non-alcoholic steatohepatitis of rats chronically fed with high-fat diet. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2001; 9: 16-18 [PMID: 11242127]
 - 47 Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114: 147-152 [PMID: 15254578 DOI: 10.1172/JCI200422422]
 - 48 St-Jules DE, Watters CA, Nagamori K, King J. The effect of weight loss on pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *ISRN Gastroenterol* 2013; 2013: 398297 [PMID: 23781345 DOI: 10.1155/2013/398297]
 - 49 Ross AB, Godin JP, Minehira K, Kirwan JP. Increasing whole grain intake as part of prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 585876 [PMID: 23762052 DOI: 10.1155/2013/585876]
 - 50 Wong VW, Chan RS, Wong GL, Cheung BH, Chu WC, Yeung DK, Chim AM, Lai JW, Li LS, Sea MM, Chan FK, Sung JJ, Woo J, Chan HL. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *J Hepatol* 2013; 59: 536-542 [PMID: 23623998]
 - 51 Eguchi A, Povero D, Alkhouiri N, Feldstein AE. Novel therapeutic targets for nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 773-779 [PMID: 23600493 DOI: 10.1517/14728222.2013.789502]
 - 52 Xiao J, Guo R, Fung ML, Liong EC, Tipoe GL. Therapeutic approaches to non-alcoholic fatty liver

应用要点

本文有助于读者了解MetS在慢性肝病发生发展中的地位,呼吁更多临床医生和科研工作者重视MetS对肝脏的危害,加强相关研究。

■同行评价

本文引用最新的文献阐述了代谢综合征与慢性肝病的关系研究现状,为该领域的研究做了较好的总结并提出展望,具有一定指导意义。

- disease: past achievements and future challenges. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 125-135 [PMID: 23558065]
- 53 Smart JE, Familletti PC, Weber DV, Keeney RF, Bailon P. Purification of the IL-2 receptor (TAC) by ligand-affinity chromatography and utilization of the immobilized receptor for receptor-affinity chromatography (RAC) purification of IL-2, mutant IL-2, and IL-2 fusion proteins. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 158S-163S [PMID: 2351848 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318290d138]
- 54 Byrne CD. Ectopic fat, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease. *Proc Nutr Soc* 2013 May 14: 1-8. [Epub ahead of print] [PMID: 23668723]
- 55 Medina-Santillán R, López-Velázquez JA, Chávez-Tapia N, Torres-Villalobos G, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Hepatic manifestations of metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev* 2013 Mar 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23471889 DOI: 10.1002/dmrr.2410]
- 56 Hurjui DM, Niță O, Graur LI, Mihalache L, Popescu DS, Huțanașu IC, Ungureanu D, Graur M. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with cardiovascular risk factors of metabolic syndrome. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2012; 116: 692-699 [PMID: 23272512]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响

黄蔚, 钱静蓉

黄蔚, 钱静蓉, 上海市普陀区利群医院消化科 上海市 200333
黄蔚, 上海市第二军医大学硕士生, 副主任医师, 主要从事肝硬化门脉高压的临床和基础研究。

上海市普陀区卫生系统自主创新科研基金资助项目, No. 普科委[2010]33号

作者贡献分布: 黄蔚与钱静蓉对此文所作贡献均等; 此课题由黄蔚设计; 研究过程由黄蔚与钱静蓉操作完成; 研究所用试剂及分析工具由黄蔚提供; 数据分析由钱静蓉完成; 本论文写作由黄蔚与钱静蓉完成。

通讯作者: 黄蔚, 副主任医师, 200333, 上海市普陀区高陵路910号, 上海市普陀区利群医院消化科。

huangwei_71_0502@126.com

电话: 021-52780030 传真: 021-52766654

收稿日期: 2013-07-19 修回日期: 2013-08-15

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy

Wei Huang, Jing-Rong Qian

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Department of Gastroenterology, Lique Hospital, Shanghai 200333, China

Supported by: the Independent Innovation Scientific Research Project of Shanghai Putuo District Health System, No. PuKeWei [2010]33

Correspondence to: Wei Huang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lique Hospital, 910 Gaoling Road, Putuo District, Shanghai 200333, China. huangwei_71_0502@126.com

Received: 2013-07-19 Revised: 2013-08-15

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of treatment with valsartan on portal vein lesions in rats with portal hypertensive gastropathy (PHG).

METHODS: Forty-eight SD rats were randomly divided into a sham operation group, a PHG model group, a valsartan prevention group, a normal dose valsartan group, and a double dose valsartan group. Partial portal vein ligation was used to induce PHG. Portal venous pressure (PVP) and heart rate (HR) were measured. Immunohistochemistry was used to detect TGF- β 1

protein expression in the portal vein, and Masson's trichrome technique was used to determine the content of collagen fibers.

RESULTS: The PVP decreased significantly in the normal dose valsartan group, double dose valsartan group and prevention group compared with the model group ($13.32 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$ vs $9.54 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.80 \text{ cmH}_2\text{O}$, $9.04 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$, $8.30 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.41 \text{ cmH}_2\text{O}$, all $P < 0.01$). TGF- β 1 expression and collagen fiber content were significantly higher in the model group than in the sham operation group (8.51 ± 1.42 vs 5.73 ± 0.87 , 2.01 ± 1.25 vs 0.82 ± 0.54); however, TGF- β 1 expression and collagen fiber content were significantly lower in the valsartan normal dose group, double dose group and prevention group than in the model group (6.54 ± 1.09 , 6.45 ± 1.37 , 6.42 ± 1.98 vs 8.51 ± 1.42 ; 0.92 ± 0.53 , 1.09 ± 0.40 , 1.03 ± 0.36 vs 2.01 ± 1.25 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein increase in rats with PHG. Treatment with valsartan can not only reduce portal pressure and TGF- β 1 expression in the portal vein but also decrease collagen synthesis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Valsartan; Portal hypertensive gastropathy; Transforming growth factor-beta 1; Collagen

Huang W, Qian JR. Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2765-2771 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765>

摘要

目的: 探讨缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉血管病变的作用。

方法: 48只SD大鼠随机分为假手术组、门脉

■背景资料

肝硬化门脉高压性胃病是肝功能失代偿期的表现, 其所致的上消化道出血仅次于食管胃底静脉曲张破裂出血。加之此类患者凝血功能差, 常导致肝脏功能进一步恶化, 加速肝性脑病、肝肾综合征等并发症出现, 影响患者预后。选择既能平稳降低门脉压力, 又能改善肝脏功能药物已经成为人们关注的热点。

■同行评议者

张宗明, 教授, 清华大学第一附属医院消化医学中心

■ 研发前沿

肝硬化门脉高压症是导致门脉高压性胃病的重要发病机制之一,有效降低门脉高压理论上可以阻止和改善胃黏膜病变。目前治疗方法包括手术、介入和药物。肝移植手术费用高,肝源少;经颈静脉肝内门腔静脉分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)短期内能够降低门脉高压,但远期并发症较多;药物治疗是目前研究热点。

高压性胃病模型组、缬沙坦预防组、缬沙坦正常剂量组和加倍剂量组。采用门静脉主干部分结扎法复制门脉高压性胃病模型。测量门静脉压力(portal venous pressure, PVP)、心率(heart rate, HR),免疫组织化学SABC法检测各组大鼠门静脉转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)蛋白表达,Masson三色染色测定胶原纤维定量。

结果:缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组的PVP($9.54 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.80 \text{ cmH}_2\text{O}$, $9.04 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$, $8.30 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.41 \text{ cmH}_2\text{O}$)明显下降,与造模组($13.22 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$)比较差异具有统计学意义($P < 0.01$)。假手术组门静脉TGF- $\beta 1$ 表达(5.73 ± 0.87)和胶原纤维定量(0.82 ± 0.54)最低,模型组TGF- $\beta 1$ 表达(8.51 ± 1.42)和胶原纤维定量(2.01 ± 1.25)明显增高,缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组TGF- $\beta 1$ 表达(6.54 ± 1.09 , 6.45 ± 1.37 , 6.42 ± 1.98)和胶原纤维定量(0.92 ± 0.53 , 1.09 ± 0.40 , 1.03 ± 0.36)与造模组(8.51 ± 1.42 , 2.01 ± 1.25)比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:门脉高压性胃病时门静脉TGF- $\beta 1$ 表达和胶原纤维定量升高,缬沙坦不仅可以降低门脉压力,而且抑制门静脉TGF- $\beta 1$ 活性,降低胶原纤维合成,对门静脉血管病变具有一定治疗作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:缬沙坦; 门静脉高压性胃病; 转化生长因子- $\beta 1$; 胶原

核心提示:门脉高压性胃病时门静脉血管内膜受损、管腔增厚、附壁血栓形成,管壁转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)和胶原纤维表达明显升高,提示门静脉血管病变形成。缬沙坦除了能够降低门静脉压力,而且通过抑制门静脉TGF- $\beta 1$ 活性,降低胶原纤维的合成,对门静脉血管病变具有一定治疗作用。

黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- $\beta 1$ 和胶原纤维的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2765-2771
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2765>

0 引言

门脉高压性胃病(portal hypertension gastropathy, PHG)是一种累及胃黏膜的血管性病变^[1],其发病机制主要与门脉高压症(portal hypertension,

PHT)有关。PHT时门静脉系统阻力增加,血流量随之增加,形成高动力循环状态,导致门静脉管壁平滑肌细胞肥大增生,内膜增厚,肌纤维增粗、致密,出现明显的动脉化构型改变^[2]。转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)在肝脏纤维化的发生和发展过程中发挥重要作用^[3,4],本课题组前期临床研究发现肝硬化PHG患者胃黏膜TGF- $\beta 1$ 蛋白表达明显增加,且随着胃黏膜病变程度加重,TGF- $\beta 1$ 表达量明显增高,提示TGF- $\beta 1$ 可能参与了门静脉高压性胃病胃黏膜血管病变的形成^[5]。此外,PHG的治疗关键在于降低门静脉压力,使用药物有效平稳地降低门静脉压力成为研究的热点^[6-8]。近年来国内外研究发现血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)1型受体拮抗剂有降低门脉压力、抗肝纤维化和改善胃黏膜血供的作用,其作用机制可能主要与抑制TGF- $\beta 1$ 的合成和激活有关^[9,10],但该类药物对PHG门静脉血管构型的影响,目前国内未见相关报道。因此,本实验通过建立PHG大鼠模型,应用Ang II 1型受体拮抗剂缬沙坦进行干预后,观察其降低门静脉压力的疗效及对门静脉血管壁TGF- $\beta 1$ 蛋白表达和胶原纤维定量的影响,以进一步明确缬沙坦的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物为成年健康♂ Sprague-Dawley(SD)大鼠48只,体质量200-220 g,由上海第二军医大学实验动物中心提供(许可证号:scxk(沪)2008-0016)。缬沙坦(商品名:代文,北京诺华制药有限公司馈赠,批号X0830),TGF- $\beta 1$ 抗体(Santa Cruz公司,货号为sc-146),SABC试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),Masson试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型建立:大鼠随机分成5组,假手术组即对照组($n = 6$)、模型组($n = 6$)、缬沙坦预防组($n = 12$)、缬沙坦正常剂量治疗组($n = 12$)、缬沙坦加倍剂量治疗组($n = 12$)。各组大鼠体质量、年龄相比无显著性差异。本实验参照国内段进东等^[11]的造模方法,该方法可造成大鼠门静脉横截面积缩窄90%,2 wk就能形成PHG模型。具体方法如下:模型组大鼠实验前24 h禁食,自由饮水,3%戊巴比妥钠溶液0.11-0.13 mL/100 g体质量腹腔内注射麻醉;开腹后暴露并游离门静脉,沿其纵轴外置一20 G钝性针头,于近肝门处用3-0丝线结扎门静脉主干

表 1 各组大鼠门静脉压力和心率比较(mean \pm SD)

分组	n	门静脉压力(cmH ₂ O)	心率(次/min)
假手术组	6	6.92 \pm 0.96 ^b	452 \pm 25
造模组	6	13.22 \pm 0.96	445 \pm 21
缬沙坦预防组	10	8.30 \pm 0.41 ^b	453 \pm 24
缬沙坦正常剂量组	10	9.54 \pm 0.80 ^b	449 \pm 18
缬沙坦加倍剂量组	9	9.04 \pm 0.96 ^b	464 \pm 12

^b $P < 0.01$ vs 造模组.

及外置针头后拔针, 形成肝前性门静脉狭窄; 假手术组仅游离门静脉主干而不结扎, 4 wk后与药物干预组一起进行指标检测. 缬沙坦预防组于造模开始每天清晨缬沙坦20 mg/kg灌胃, 1次/d, 连续4 wk. 缬沙坦常规剂量治疗组和加倍剂量治疗组在造模术后第3周给药, 前者每天清晨20 mg/kg灌胃, 1次/d; 后者40 mg/kg灌胃, 1次/d, 连续2 wk. 造模组和假手术组于术后第3周予等量0.9%NaCl溶液灌胃, 连续2 wk.

1.2.2 门静脉压力(portal venous pressure, PVP)及心率(heart rate, HR)测定: 造模4 wk后动物禁食12 h, 饮水, 3%戊巴比妥0.1 mL/100 g腹腔内麻醉后, 仰于一平面上, 用计时器记录其1 min的心跳数. 然后沿腹中线进腹, 切口长约3 cm, 暴露腹腔, 找到肠系膜上静脉和脾静脉汇合点上方, 将一充满肝素生理盐水的5号静脉输液针逆行穿刺刺入门静脉, 固定套管针后, 由助手连接到门静脉测压管, 测压管“0”点与大鼠右心房保持同一水平面, 以最终水柱固定点为门静脉压力值. 术后结扎穿刺处血管.

1.2.3 门静脉血管标本制备: 完成门静脉压力和心率测定后取大鼠门静脉主干约1 cm, 4%多聚甲醛固定石蜡包埋, 4 μ m厚连续切片, 行HE染色.

1.2.4 免疫组织化学染色检测门静脉血管壁TGF- β 1蛋白表达: 采用SABC法, 严格按说明书操作. 免疫组织化学染色后先在光镜下做定性观察, 200倍高倍镜下每张切片测定3个视野, 通过显微摄像系统摄取图像, 在图像分析仪上测定其光密度值, 取平均值.

1.2.5 Masson三色染色法测定门静脉血管壁胶原纤维含量: 严格按说明书操作. 以蓝色胶原沉积为阳性信号, 染色后先在光镜下做定性观察, 200倍高倍镜下每张切片测定3个视野, 通过显微摄像系统摄取图像, 在图像分析仪上测定其光密度值, 取平均值.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 所得数据以mean \pm SD表示. 多组间比较采用单因素方差分析; 若方差齐性, 两两比较采用LSD法, 若方差不齐, 采用Dunnett T3检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 造模情况 缬沙坦加倍剂量组大鼠死亡3只, 其中2只由于灌胃后呛咳、窒息死亡, 1只考虑为腹水伴腹腔感染, 缬沙坦预防组和正常剂量组分别有2只大鼠死亡, 死因为灌胃后呛咳、窒息. 造模组和假手术组无大鼠死亡.

2.2 PVP和HR的变化 造模组PVP明显上升, 与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、加倍剂量组和正常剂量组PVP与造模组比较明显降低($P < 0.01$), 虽然缬沙坦预防组、加倍剂量组和正常剂量组PVP逐渐升高, 但3组间比较无统计学差异($P > 0.05$, 表1).

2.3 光镜下观察 造模后1 wk大鼠开始厌食、懒动, 2 wk后腹腔增大, 厌食加剧. HE染色结果显示, 假手术组大鼠门静脉内膜光滑, 内皮细胞无破坏, 中膜平滑肌细胞排列整齐. 造模组门静脉管壁明显增厚, 内膜受损且增厚, 内皮细胞不完整, 附壁血栓形成. 中膜平滑肌细胞增多, 增大并排列紊乱. 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠内膜较光滑, 内皮细胞破坏不明显, 可见少量附壁血栓. 平滑肌细胞稍增多, 排列较整齐(图1).

2.4 门静脉血管TGF- β 1表达的变化 免疫组织化学结果显示, TGF- β 1表达主要在门静脉血管内皮细胞和平滑肌细胞的细胞浆和细胞膜, 阳性结果为细胞质染成棕黄色, 细胞核染成淡蓝色. 造模组大鼠门静脉血管壁TGF- β 1表达量明显增加, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂

■ 相关报道

研究报道肝硬化门脉高压性胃病是一种血管性疾病, 血管紧张素II与肝硬化门脉高压症的形成密切相关. 血管紧张素II 1型受体拮抗剂沙坦类药物能够降低门静脉压力, 改善胃黏膜微循环, 且不良反应少, 不引起明显的血压、心率改变.

■创新盘点

缬沙坦改善肝硬化门脉高压性胃黏膜病变的作用机制目前还不十分清楚。本课题发现缬沙坦能够调控门静脉血管TGF- β 1的合成和分泌,减少门静脉管壁胶原纤维形成,减少血管损伤,减轻血管病变的程度。

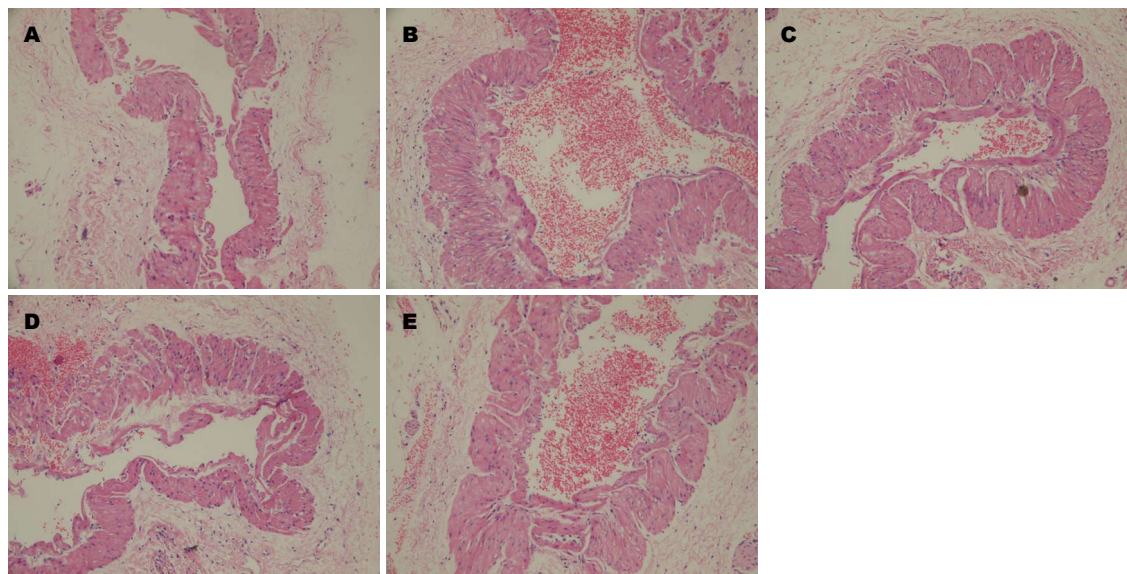


图1 门静脉血管HE染色结果($\times 200$)。A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

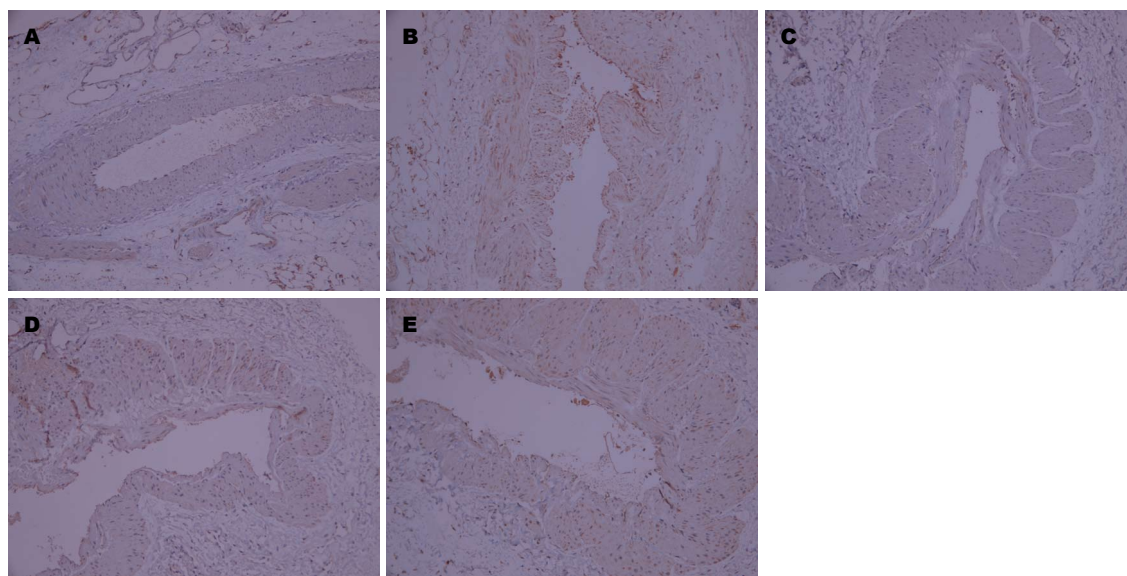


图2 免疫组织化学染色检测门静脉血管TGF- β 1表达情况($\times 200$)。A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。TGF- β 1: 转化生长因子- β 1。

量组大鼠胃黏膜组织TGF- β 1阳性表达水平较造模组降低($P < 0.05$), 但高于假手术组(图2, 表2)。

2.5 门静脉血管壁胶原纤维定量情况 Masson染色结果显示, 胶原纤维呈蓝色, 肌纤维呈红色, 红细胞呈橘红色。造模组大鼠门静脉胶原纤维表达明显增强, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠门静脉血管胶原纤维表达水平较造模组降低($P < 0.05$), 但高于假手术组(图3, 表2)。

3 讨论

PHG是指在门静脉高压基础上发生的胃黏膜病

变, 常见于肝硬化伴PHT, 是发生上消化道出血的常见原因之一^[12-14]。该病的发生发展与PHT密切相关^[15,16]。近年国内外研究发现^[2,17]PHT患者的内脏血管壁出现特征性的构型改变, 表现为内脏静脉的动脉化构型改建, 电镜下可见门静脉、脾静脉和胃冠状静脉均存在着明显的增殖、肥大、迁移、重构病变, 血管直径增加及弹性降低。导致这种血管病变的机制目前仍未完全阐明^[18,19], 门脉系统的血流动力学改变^[20,21]、免疫反应^[2]、基因调控^[22,23]、血管活性物质^[24,25]等因素可能参与了门脉高压性血管病变的过程。有文献报道^[2,26], PHT时门静脉血管病变

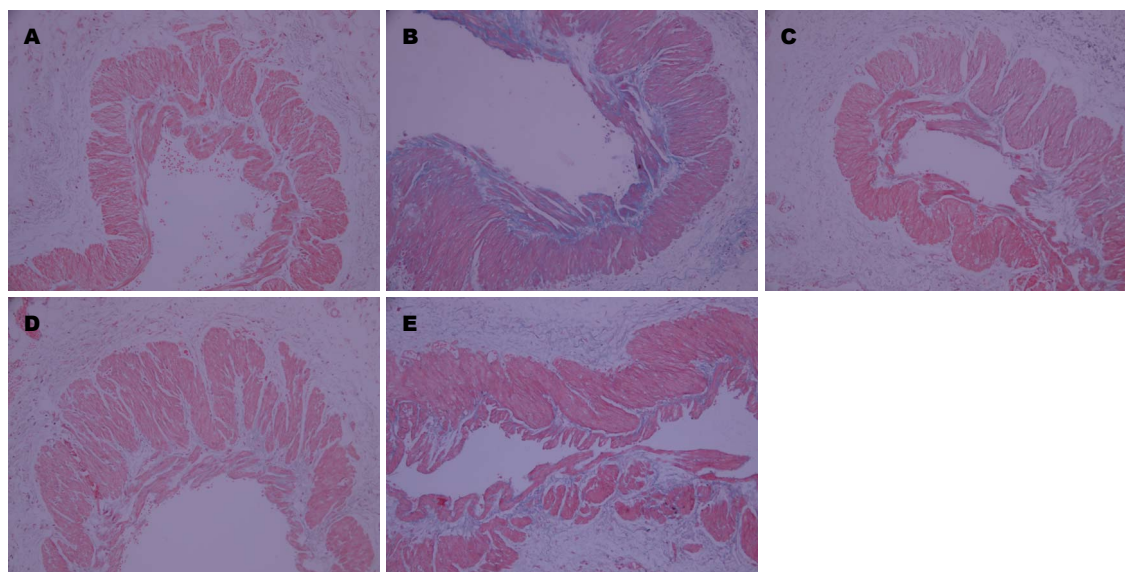


图3 Masson三色染色法测定门静脉血管壁胶原纤维含量情况($\times 200$)。A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

■应用要点

肝硬化门脉高压性胃病及其并发症是肝硬化患者的主要威胁。缬沙坦能够通过降低大鼠门静脉血管阻力、减少水钠潴留、减轻门静脉血管损伤,降低血管构型改建等多种作用治疗门脉高压性胃病相关的内脏血管病变,为临床使用缬沙坦提供了理论依据。

表2 各组大鼠门静脉血管TGF- β 1表达和胶原定量情况(mean \pm SD)

分组	n	积分光密度值	
		TGF- β 1	胶原纤维
假手术组	6	5.73 \pm 0.87 ^b	0.82 \pm 0.54 ^b
造模组	6	8.51 \pm 1.42	2.01 \pm 1.25
缬沙坦预防组	10	6.42 \pm 1.98 ^a	1.03 \pm 0.36 ^a
缬沙坦正常剂量组	10	6.54 \pm 1.09 ^a	0.92 \pm 0.53 ^a
缬沙坦加倍剂量组	9	6.45 \pm 1.37 ^a	1.09 \pm 0.40 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 造模组。TGF- β 1: 转化生长因子- β 1。

格外明显,具体表现为:(1)内膜明显增厚,呈现弥漫性增厚和局灶性增厚斑,形成新内膜,增生斑块呈丘状突向腔内。受损血管内皮表面有血小板和血细胞粘附聚集,逐步形成微小血栓;(2)中膜明显增厚,平滑肌增生肥大,肌纤维粗大,层次增多,排列紊乱;(3)静脉壁增厚,包括内膜下间隙和中膜内平滑肌细胞增多和细胞外基质的异常积聚。我们通过直接光镜下观察门静脉血管壁发现,造模组门静脉血管壁增厚,内膜受损,内皮细胞肿胀,可见附壁血栓形成,而假手术组血管壁内膜完整,内皮细胞排列整齐,内皮细胞损伤不明显,与上述文献结果一致。

胶原纤维是一种重要的血管细胞外基质蛋白,可保持血管壁的韧性和强度。TGF- β 对于基质蛋白聚集和胶原纤维沉积具有重要调控作用。TGF- β 在减少基质降解酶及增加抑制剂合成的

同时,还促进成纤维细胞增殖,在血管病变的发生发展中起关键作用^[27,28]。TGF- β 1在哺乳动物体细胞中所占比例最高(>90%),活性最强,与疾病关系最密切^[29]。本课题组研究发现造模组大鼠门静脉血管壁TGF- β 1蛋白水平及胶原纤维含量明显高于假手术组($P < 0.01$),提示TGF- β 1参与了门静脉血管胶原的合成,促进血管壁纤维增生,导致血管构型改变。其原因可能是:(1)PHG时血管组织缺氧,门静脉血管内皮层受损,以及血管纤维化及平滑肌细胞大量增生影响氧和物质交换,缺氧产生代谢物质和氧自由基,刺激血管壁表达TGF- β 1^[30];(2)PHT导致门静脉系统血流加速、血流量增加,高动力循环直接导致门静脉血管壁受损,内皮细胞完整性的破坏可以直接刺激血管壁表达TGF- β 1;(3)循环及血管局部其他细胞因子如低氧诱导因子(hypoxia induced factor 1, HIF1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)等可以刺激血管平滑肌表达TGF- β 1^[31]。

目前,缬沙坦作为一种新型降压药物,在降低门静脉压力和保护肝脏方面的作用机制引起多数学者的关注^[7,8]。本研究发现,缬沙坦确实能够降低门静脉压力,缬沙坦干预各组大鼠的门静脉压力明显低于造模组($P < 0.01$),进一步资料分析,缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组大鼠的门静脉压力逐渐降低,但3组间比较差异无统计学意义,提示我们尽早应用Ang II 1型受体拮抗剂可能会取得较好的降低门脉压力疗效。但是我们也看到缬沙坦并不能阻止门脉高

■同行评价

文章具有一定的科学性、创新性和可读性。

压症和PHG的最终形成。缬沙坦通过阻断Ang II 1型受体来特异性拮抗Ang II的作用,从而抑制TGF- β 1合成和表达^[32,33]。应用缬沙坦干预后门静脉管壁轻度增厚,内膜受损较轻,内皮细胞稍有肿胀,排列较规整,附壁血栓减少。缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠门静脉TGF- β 1蛋白表达水平与胶原纤维含量均明显低于造模组($P<0.05$),推测缬沙坦通过抑制TGF- β 1蛋白表达进一步导致内皮细胞凋亡减少,平滑肌细胞增殖、迁移、重构和细胞外基质合成明显减弱,减少血管胶原纤维合成,对门静脉血管壁具有一定保护作用。但是我们也发现,缬沙坦干预各组间门静脉血管壁TGF- β 1蛋白表达水平与胶原纤维含量比较无显著性差异,提示缬沙坦对门静脉血管壁的保护作用与用药剂量和时间无明显关系。

总之,门静脉系统持续高压力和高血流量的刺激是引起门静脉血管内膜损伤的主要因素。肝硬化时肝、肾功能障碍、氧自由基清除率下降,门静脉血中有害物质及氧自由基可直接损伤血管内膜,内皮损伤后处直接影响血管结构外,其释放的血管活性物质对循环的影响更严重。本研究证实,PHG大鼠存在门静脉血管内膜损伤,血管活性物质TGF- β 1释放增加,缬沙坦可能通过抑制TGF- β 1的释放,减少血管壁胶原纤维合成,有助减缓门静脉血管病变的发展。

4 参考文献

- Khomeriki SG, Zhukov AG. [Morphological features of the gastric mucosa capillary network in patients with portal hypertension]. *Arkh Patol* 2011; 73: 43-47 [PMID: 22164432]
- 李涛, 杨镇. 门脉高压性血管病变研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 64-68
- Jia D, Duan F, Peng P, Sun L, Liu X, Wang L, Wu W, Ruan Y, Gu J. Up-regulation of RACK1 by TGF- β 1 promotes hepatic fibrosis in mice. *PLoS One* 2013; 8: e60115 [PMID: 23555900 DOI: 10.1371/journal.pone.0060115]
- Sun YC, Liang Q, Qian KL, Xiao L, Liu Q, Shi XF. [Effect of TGF- β 1 siRNA-mediated silencing on Smad proteins in hepatic fibrosis rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 289-293 [PMID: 22964151]
- 黄蔚, 陈岳祥. VEGF、TGF- β 1在门脉高压性胃病中的作用研究. *中国医药指南* 2009; 7: 38-39
- Al-Busafi SA, McNabb-Baltar J, Farag A, Hilzenrat N. Clinical manifestations of portal hypertension. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 203794 [PMID: 23024865 DOI: 10.1155/2012/203794]
- Fierbinteanu-Braticevici C, Dragomir P, Tribus L, Negreanu L, Bengus A, Usvat R, Andronescu D. The effect of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal and systemic hemodynamics and on renal function in liver cirrhosis. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 337-342 [PMID: 17205144]
- Huo LJ, Zhang SJ, Liu Y. [Clinical evaluation of valsartan on portal hypertension in patients with hepatic cirrhosis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 622-623 [PMID: 20825720]
- Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Koizumi W. Effects of 1-year administration of olmesartan on portal pressure and TGF- β 1 in selected patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1316-1323 [PMID: 21850387]
- 霍丽娟, 刘莹, 张锁娟. 缬沙坦对肝硬化患者门静脉压力和肝纤维化指标的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1139-1142
- 段进东, 管洪庚, 陈易人, 钱海鑫, 汪良. 一期门静脉狭窄复制大鼠门脉高压性胃病模型. *中华实验外科杂志* 2000; 17: 356-357
- Kalafateli M, Triantos CK, Nikolopoulou V, Burroughs A. Non-variceal gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: a review. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2743-2754 [PMID: 22661272 DOI: 10.1007/s10620-012-2229-x]
- Fontana RJ, Sanyal AJ, Ghany MG, Bonkovsky HL, Morgan TR, Litman HJ, Reid AE, Lee WM, Naishadham D. Development and progression of portal hypertensive gastropathy in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 884-893 [PMID: 21139575]
- de Macedo GF, Ferreira FG, Ribeiro MA, Szutan LA, Assef MS, Rossini LG. Reliability in endoscopic diagnosis of portal hypertensive gastropathy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 323-331 [PMID: 23858376 DOI: 10.4253/wjge.v5.i7.323]
- 李瑞, 毛华, 黄纯焱. 门脉高压性胃病发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2011; 31: 277-279
- Cubillas R, Rockey DC. Portal hypertensive gastropathy: a review. *Liver Int* 2010; 30: 1094-1102 [PMID: 20536720]
- Kovaleva OI, Khomeriki SG, Zhukov AG, Kovi-azina IO, Golovanova EV. [Capillary collusion of gastric mucosa in patients with Helicobacter pylori gastritis and portal hypertension]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2010; (2): 13-18 [PMID: 20496803]
- Li T, Yang Z. Research progress of vasculopathy in portal hypertension. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6079-6084 [PMID: 16273630]
- Lo GH. Mechanism of portal hypertensive gastropathy: an unresolved issue. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1482-1483 [PMID: 19743994 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06012.x]
- 林德新, 刘景丰. 门脉高压症血管构型改建及其机制. *中华综合医学杂志* 2004; 6: 80-82
- Curvêlo LA, Brabosa W, Rhor R, Lanzoni V, Parise ER, Ferrari AP, Kondo M. Underlying mechanism of portal hypertensive gastropathy in cirrhosis: a hemodynamic and morphological approach. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1541-1546 [PMID: 19743998 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05871.x]
- Marques C, Mauriz JL, Simonetto D, Marroni CA, Tuñon MJ, González-Gallego J, Marrón NP. Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy. *Ann Hepatol* 2011; 10: 531-539 [PMID: 21911895]
- Lan C, Sun X, Dong L, Huang B, Yuan S, Wu K. The role of endotoxin in the pathogenesis of gas-

- tric mucosal damage in cirrhotic rats with portal hypertensive gastropathy. *Asian Pac J Trop Med* 2011; 4: 212-214 [PMID: 21771455 DOI: 10.1016/S1995-7645(11)60071-0]
- 24 Pan WD, Liu Y, Lin N, Xu R. The expression of PEDF and VEGF in the gastric wall of prehepatic portal hypertensive rats. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 2152-2155 [PMID: 22024088 DOI: 10.5754/hge11227]
- 25 Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep* 2008; 41: 278-286 [PMID: 18452647]
- 26 Kitao A, Sato Y, Sawada-Kitamura S, Harada K, Sasaki M, Morikawa H, Shiomi S, Honda M, Matsui O, Nakanuma Y. Endothelial to mesenchymal transition via transforming growth factor- β 1/Smad activation is associated with portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension. *Am J Pathol* 2009; 175: 616-626 [PMID: 19608867 DOI: 10.2353/ajpath.2009.081061]
- 27 曾伟杰, 陈灿, 黄石安. 血管纤维化过程中TGF- β 及信号转导的作用. *医学综述* 2008; 14: 332-334
- 28 马绍骏. 转化生长因子 β 1在血管损伤后再狭窄形成中的作用. *中国组织工程研究与临床康复* 2008; 12: 5965-5968
- 29 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]
- 30 Molina F, Rua A, Peinado MA, Del Moral ML. Short-term hypoxia/reoxygenation activates the angiogenic pathway in rat caudate putamen. *J Biosci* 2013; 38: 363-371 [PMID: 23660671]
- 31 Lee YK, Kim EJ, Lee JE, Noh JW, Kim YG. Hypoxia induces connective tissue growth factor mRNA expression. *J Korean Med Sci* 2009; 24 Suppl: S176-S182 [PMID: 19194549 DOI: 10.3346/jkms.2009.24.S1.S176]
- 32 Subeq YM, Ke CY, Lin NT, Lee CJ, Chiu YH, Hsu BG. Valsartan decreases TGF- β 1 production and protects against chlorhexidine digluconate-induced liver peritoneal fibrosis in rats. *Cytokine* 2011; 53: 223-230 [PMID: 21129996 DOI: 10.1016/j.cyt.2010.11.004]
- 33 Gong ZJ, Song SL, Huang YQ, Ruan P. [Effects of perindopril and valsartan on the expression of TGF β 1 and TGF β receptor II mRNA, Smad3 and Smad7 in experimental hepatic fibrotic rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 737-740 [PMID: 15619341]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

小干扰RNA靶向抑制*DcR3*基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响

苏传丽, 罗殿中, 陈昱, 覃新干

■背景资料

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其转移和复发率很高, 对健康危害大。DcR3在HCC中过表达, 抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关, 若能抑制HCC中DcR3的表达, 则可能抑制肿瘤的发生发展, 并为肿瘤的治疗提供新策略。

苏传丽, 罗殿中, 陈昱, 广西医科大学病理学教研室 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021
覃新干, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021

苏传丽, 主治医师, 主要从事肿瘤的分子生物学研究。

广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. 2007105981001M02

作者贡献分布: 此课题由苏传丽与罗殿中设计; 研究过程由苏传丽与覃新干操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由苏传丽、陈昱及罗殿中提供; 数据分析由苏传丽与覃新干完成; 本论文写作由苏传丽与罗殿中完成。

通讯作者: 罗殿中, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院病理科。

luodianzhong@yahoo.com.cn

电话: 0771-5748712

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

SiRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells

Chuan-Li Su, Dian-Zhong Luo, Gang Chen, Xin-Gan Qin

Chuan-Li Su, Dian-Zhong Luo, Gang Chen, Department of Pathology, Guangxi Medical University and the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Xin-Gan Qin, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Graduate Innovation Fund of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2007105981001M02

Correspondence to: Dian-Zhong Luo, Professor, Department of Pathology, Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. luodianzhong@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of siRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression on apoptosis and migratory ability of HepG2 cells.

METHODS: Four *DcR3*-specific siRNAs and one random siRNA were designed, synthesized, and

transfected into HepG2 cells using Lipofectamine™ 2000. Semi-quantitative RT-PCR was used to screen the siRNA that had the best interfering effect. Immunocytochemistry was used to assess the expression of DcR3 protein. Cell apoptosis was assessed by flow cytometry, and cell migratory ability was determined by wound healing assay.

RESULTS: All four *DcR3*-specific siRNAs could decrease the expression of *DcR3* mRNA, and siRNA4 had the best interfering effect, which could silence the mRNA expression by 62.9% and inhibit the expression of *DcR3* protein. The apoptosis rate was significantly higher in the specific interference group than in the three control groups ($22.97\% \pm 2.10\%$ vs $1.17\% \pm 0.32\%$, $1.44\% \pm 0.43\%$, $1.22\% \pm 0.40\%$, all $P < 0.001$). The relative migratory ability of HepG2 cells in the specific interference group at 24, 48 and 72 h after transfection was significantly lower than that in control groups (all $P < 0.001$).

CONCLUSION: *DcR3* plays an important role in the apoptosis and migration of HepG2 cells. Inhibition of expression of *DcR3* can induce apoptosis and repress migration of HepG2 cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *DcR3*; HCC; RNAi; Apoptosis; Migration

Su CL, Luo DZ, Chen G, Qin XG. SiRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2772-2779
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2772.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2772>

摘要

目的: 应用RNA干扰技术抑制人肝细胞癌细胞系HepG2细胞*DcR3*表达, 并研究*DcR3*基因沉默后对HepG2细胞凋亡和迁移能力的影响。

方法: 设计并合成特异性*DcR3*-siRNA 4条和

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

阴性对照siRNA 1条, 转染HepG2细胞, 通过半定量反转录-PCR(RT-PCR)及免疫细胞化学方法检测其对DcR3表达的抑制作用并筛选出干扰效果最强的siRNA, 应用流式细胞仪、DNA ladder方法检测细胞的凋亡情况, 应用划痕实验检测细胞体外迁移能力的变化。

结果: 各特异性DcR3-siRNA均能抑制DcR3 mRNA表达($P<0.05$), 其中以DcR3-siRNA4的抑制作用最明显, 抑制作用达62.9%; 将DcR3-siRNA4转染HepG2细胞能明显抑制HepG2细胞DcR3蛋白的表达($P<0.01$)。流式细胞仪检测结果显示, 特异性DcR3-siRNA转染组细胞的凋亡率($22.97\% \pm 2.10\%$)明显高于空白对照组($1.17\% \pm 0.32\%$)、脂质体转染组($1.44\% \pm 0.43\%$)和非特异性siRNA转染组($1.22\% \pm 0.40\%$)(均 $P<0.001$); DNA ladder实验发现特异性DcR3-siRNA转染组出现DNA ladder, 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组均未出现DNA ladder。划痕实验结果显示, 转染后24、48和72 h, 特异性DcR3-siRNA转染组细胞的相对迁移率均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组。

结论: DcR3在肝癌细胞的凋亡及迁移中发挥重要作用, 抑制DcR3的表达能诱导肝癌细胞凋亡并降低肝癌细胞的迁移能力。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: DcR3; 肝细胞癌; RNAi; 凋亡; 迁移

核心提示: 诱捕受体3(decoy receptor 3, DcR3)在肝癌细胞中过表达, 并在肝癌细胞的凋亡及迁移中发挥重要作用, 抑制DcR3的表达能诱导肝癌细胞凋亡并降低肝癌细胞的迁移能力。

苏传丽, 罗殿中, 陈罡, 覃新干. 小干扰RNA靶向抑制DcR3基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2772-2779 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2772.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2772>

0 引言

诱捕受体3(decoy receptor 3, DcR3)是肿瘤坏死因子受体超家族成员之一, 在多种恶性肿瘤中呈现过表达, 能抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关, 若能抑制恶性肿瘤中DcR3的表达, 则可能阻抑肿瘤的发生发展, 并为肿瘤的治疗提供新策略。RNA干扰(RNA interference, RNAi)是近年新发展的一种特异抑制基因表达

的技术, 主要用于基因功能和基因治疗研究方面。本研究应用RNAi技术, 将合成的针对DcR3的siRNA转染人肝细胞癌细胞系HepG2细胞, 观察DcR3表达受抑制后肝细胞癌细胞凋亡和迁移能力的变化情况。

1 材料和方法

1.1 材料 根据DcR3 mRNA的序列(Genbank, DcR3: NM_003823)由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成4段DcR3特异性siRNA片段和一段与任何基因皆无同源性的非特异性siRNA即阴性对照siRNA, 各siRNA序列具体为: DcR3特异性siRNA序列: siRNA1: sense: 5'-GGCUGUACGCGGAGUGGCATT-3', anti-sense: 5'-UGCCACUCCGCGUACAGCCGG-3'; siRNA2: sense: 5'-GCUCCAGCAAGGACCAUGATT-3', anti-sense: 5'-UCAUGGUCCUUGCUGGAGCAG-3'; siRNA3: sense: 5'-GCCAGAACACGCAGUGCCATT-3', anti-sense: 5'-UGGCACUGCGUGUUCUGGCTG-3'; siRNA4: sense: 5'-CGCAGUUCUGGAACUACCUTT-3', anti-sense: 5'-AGGUAGUCCAGAACUGCGTG-3'; 非特异性siRNA序列: sense: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', antisense: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。人肝细胞癌细胞系HepG2购自中国科学院上海细胞生物研究所, DMEM培养基购自美国GIBCO公司, FBS购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司, 脂质体Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司, Simply P总RNA提取试剂盒购自BioFlux公司, 逆转录试剂盒购自Fermentas公司, Taq DNA聚合酶购自日本TaKaRa公司, 抗DcR3兔多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 二抗和DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司, AnnexinV-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC)细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司, 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司, PCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HepG2细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液, 并置于37℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度培养箱培养。实验采用对数生长期细胞。

1.2.2 细胞转染: 根据Lipofectamine™ 2000说

■研发前沿
肿瘤基因靶向治疗的研究目前备受关注, 在恶性肿瘤发生发展过程中起重要作用的癌基因的发现和抑制基因表达技术的发展, 将对提高肿瘤的治疗效果, 改善患者预后起积极的推动作用。

■相关报道

以往研究发现DcR3在多种恶性肿瘤中过表达,抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关,可作为恶性肿瘤基因治疗的靶点。

表 1 各组DcR3 mRNA相对表达水平 (mean ± SD)

分组	DcR3/ β -actin相对灰度值
空白对照组	0.5892 ± 0.0634
脂质体转染组	0.5769 ± 0.0575
非特异性siRNA转染组	0.5966 ± 0.0604
siRNA1组	0.2315 ± 0.0424 ^{acegi}
siRNA2组	0.3999 ± 0.0526 ^{ace}
siRNA3组	0.4538 ± 0.0761 ^{ace}
siRNA4组	0.2187 ± 0.0394 ^{acegi}

^a $P < 0.05$ vs 空白对照组; ^c $P < 0.05$ vs 脂质体转染组; ^e $P < 0.05$ vs 非特异性siRNA转染组; ^g $P < 0.05$ vs siRNA2组; ⁱ $P < 0.05$ vs siRNA3组。DcR3: 诱捕受体3。

说明书实验步骤进行转染,细胞分为实验组和对照组,实验组分siRNA1、siRNA2、siRNA3、siRNA4 4组,对照组分空白对照组、脂质体组和非特异性siRNA转染组,各组siRNA转染的终浓度为100 nmol/L。用荧光显微镜和流式细胞仪检测转染效率。

1.2.3 RT-PCR检测DcR3 mRNA表达情况: 转染后24 h收集各组细胞,用Simply P总RNA提取试剂盒提取细胞总RNA、定量,各组取等量RNA逆转录后进行PCR。DcR3 PCR上游引物为: 5'-TCCACCGCGCCACTACAC-3', 下游引物为: 5'-ACGGCACGCTCACACTCC-3', 扩增片段长度426 bp; 内参照为 β -actin, 上游引物为: 5'-TTCCAGCCTTCCTTCCTGG-3', 下游引物为: 5'-TTGCGCTCAGGAGGAGCAAT-3', 扩增片段长度224 bp。PCR反应条件: 95 °C 5 min, 95 °C 45 s, 58 °C 45 s, 72 °C 1 min共32个循环, 72 °C 10 min。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳后用凝胶成像分析系统分析。

1.2.4 细胞免疫化学实验检测DcR3蛋白的表达: 制备细胞爬片,按照分组对细胞进行相应处理,转染48 h后,进行免疫细胞化学染色,反应条件为: 1:300稀释的一抗室温孵育2 h,二抗室温孵育30 min, DAB染液显色10 min。再由两名病理科医师采用双盲法阅片和评分,计数细胞1000个以上,靶细胞阳性率<5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, >75%为4分; 显色程度按切片中细胞显色有无及染色深浅记分,细胞无染色为0分,浅棕黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分; 将两分相乘,结果分为4个等级, 0分为(-), 1-4分为(+), 5-8分为(++), ≥9分为(+++)。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡情况: 细胞分为空白对照组、脂质体转染组、非特异性siRNA转染组及干扰效果最佳的特异性DcR3-siRNA转染组。转染后72 h,收集各组细胞,按试剂盒说明书,加入500 μ L的Binding Buffer悬浮细胞,然后加入2 μ L Annexin V-FITC混匀,再加入5 μ L碘化丙啶(propidium iodide, PI)混匀,室温避光反应5-15 min,在1 h内,应用流式细胞仪进行检测,计算凋亡细胞的百分比。

1.2.6 DNA ladder检测细胞凋亡情况: 转染后72 h,收集各组细胞,按说明书提取各组细胞的基因组DNA,提取的基因组DNA经琼脂糖凝胶电泳,然后用凝胶成像分析系统观察是否出现反映细胞凋亡的DNA ladder。

1.2.7 划痕实验检测肝癌细胞的运动迁移能力: 转染前用10 μ L Tip头在每孔中央划痕,用PBS冲洗3遍,洗掉脱落细胞,镜下记录划痕区相对距离作为划痕区的原始距离,并拍照。在转染后24、48、72 h分别测量划痕创面的宽度,以原始距离减去各个时间点划痕创面的宽度计算出细胞迁移的相对距离,每组设三个孔,每孔等距离取三个点作为测量点,测量后取均数,按下面公式计算细胞的相对迁移率: 细胞相对迁移率 = 细胞迁移的相对距离/划痕区的原始距离 × 100%。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行分析,实验数据以mean ± SD表示,计量资料多组之间比较采用ANOVA进行,等级资料多组之间比较采用随机区组设计的秩和检验(Friedman检验),计数资料比较采用四格表确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染效果的鉴定 荧光显微镜计数和流式细胞仪检测结果显示转染效率约为85%,保证了后续实验顺利进行。

2.2 特异性DcR3-siRNA对DcR3 mRNA表达的影响及siRNA的筛选 半定量RT-PCR结果显示,各DcR3特异性siRNA均有抑制DcR3 mRNA表达的作用($P < 0.05$),其中以siRNA4的作用更明显,干扰作用达62.9%, siRNA1、siRNA2、siRNA3的干扰作用分别为60.7%、32.1%、23.0%,而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3 mRNA的表达无影响($P > 0.05$)(表1,图1)。因此,我们选择干扰效果最佳的siRNA4进行后续实验。

2.3 特异性DcR3-siRNA对DcR3蛋白表达的影

表 2 各组细胞诱捕受体3蛋白表达情况

HepG2	C组	C1组	C2组	S4组
1	+++	+++	+++	+ ^{bdf}
2	+++	++	+++	— ^{bdf}
3	++	+++	++	— ^{bdf}
4	+++	++	+++	— ^{bdf}
5	+++	+++	+++	+ ^{bdf}
6	+++	+++	+++	— ^{bdf}

^b $P<0.01$ vs 空白对照组(C组); ^d $P<0.01$ vs 脂质体转染组(C1组);^f $P<0.01$ vs 非特异性siRNA转染组(C2组)。表 3 各组细胞的凋亡情况 (mean \pm SD)

分组	凋亡率(%)
空白对照组	1.17 \pm 0.32
脂质体转染组	1.44 \pm 0.43
非特异性siRNA转染组	1.22 \pm 0.40
特异性DcR3-siRNA4转染组	22.97 \pm 2.10 ^{bdf}

^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^d $P<0.01$ vs 脂质体转染组; ^f $P<0.01$ vs 非特异性siRNA转染组。DcR3: 诱捕受体3。

响 将DcR3-siRNA4转染入HepG2细胞, 免疫细胞化学结果显示, 空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞DcR3蛋白呈阳性表达(++-+++), 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞DcR3蛋白表达明显弱于前3组, 呈阴性或弱阳性表达(--+), 特异性DcR3-siRNA4明显降低DcR3蛋白的表达($P<0.01$), 而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3蛋白的表达无影响($P>0.05$)(表2, 图2)。

2.4 流式细胞仪检测RNA干扰DcR3基因后对细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测细胞凋亡结果显示, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞与空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞相比, 凋亡率明显增高, 差异有统计学意义($P<0.001$), 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞凋亡率每两组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

2.5 DNA ladder实验检测RNA干扰DcR3基因后对细胞凋亡的影响 DNA ladder实验结果显示特异性DcR3-siRNA4转染组出现DNA ladder, 而其余几组均未见DNA ladder出现($P<0.01$)(图3)。

2.6 RNA干扰DcR3基因后细胞迁移能力的变化 转染后各个时间点细胞相对迁移率如表4所示, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞相对迁移率在

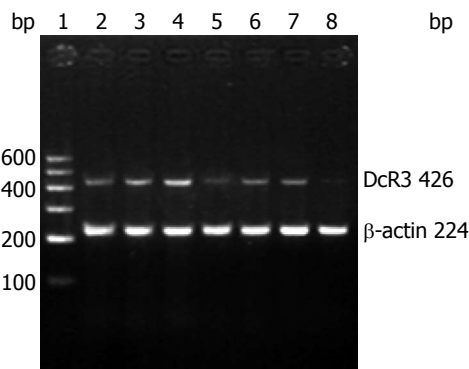


图 1 不同DcR3-siRNA干扰DcR3基因RT-PCR靶位点筛选图。

1: DNA marker; 2: 空白对照组; 3: 脂质体转染组; 4: 非特异性siRNA转染组; 5: siRNA1组; 6: siRNA2组; 7: siRNA3组; 8: siRNA4组。DcR3: 诱捕受体3。

24、48和72 h均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组, 差异有统计学意义($P<0.01$), 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组每两组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结果表明, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞的迁移能力低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组(图4)。

3 讨论

肿瘤的转移和复发是导致肿瘤治疗困难和患者预后不良的重要原因。肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其发病率逐年升高, 且其转移和复发率很高, 对健康危害极大。近年来发现的TNFR超家族成员DcR3是FasL、LIGHT和TL1A的诱捕受体, 通过影响FasL、LIGHT和TL1A的促凋亡作用和免疫调节作用而抑制机体的抗肿瘤免疫, 与肿瘤的发生、发展相关^[1-6]。刘忠臣等^[7]研究肝癌发展中FasL及其受体Fas/DcR3表达情况发现, 实验小鼠在接种肝细胞癌H22细胞后的第4天, 接种部位可以检测到有DcR3表达, 第6天开始表达上调, 其表达水平随时间的延长而增加, 在FasL高表达的部位DcR3的表达量也较高, 而Fas的表达则随时间的延长而减少直至丢失, 表明肿瘤细胞通过大量表达DcR3来竞争结合FasL, 从而逃避机体的免疫监视。Yang等^[8,9]研究发现, DcR3与TL1A相互作用, 促进人脐静脉内皮细胞的增殖和迁移, 上调基质金属蛋白酶-2的表达和活性, 在体外DcR3诱导人脐静脉内皮细胞形成索状血管样结构, 在体内则诱导其形成血管, 促进肿瘤的生长和转移。陈张铭等^[10,11]研究指出DcR3在肝癌组织中表达明显增高, 肝癌组微血管密度(microvessel density, MVD)值明显

■创新盘点

本研究应用RNA干扰技术抑制人肝细胞癌细胞系HepG2细胞DcR3表达, 并研究DcR3基因沉默后对HepG2细胞凋亡和迁移能力的影响, 探讨以DcR3为靶点进行基因治疗可能性。

■应用要点

*DcR3*基因沉默可以诱导肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,以*DcR3*为靶点进行基因治疗可以作为临床治疗肝癌细胞癌的新方向.

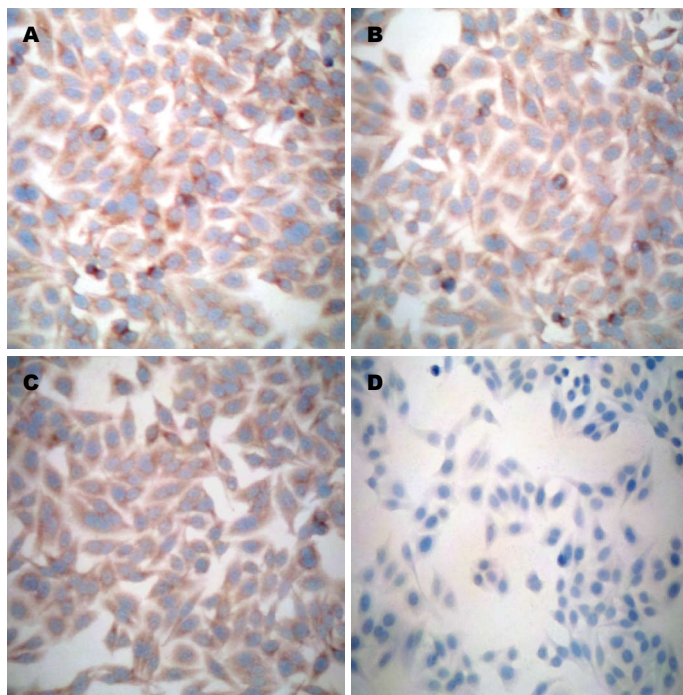


图2 免疫细胞化学检测干扰后*DcR3*蛋白的表达情况($\times 100$). A: 空白对照组; B: 脂质体转染组; C: 非特异性siRNA转染组; D: *DcR3*-siRNA4转染组. *DcR3*: 诱捕受体3.

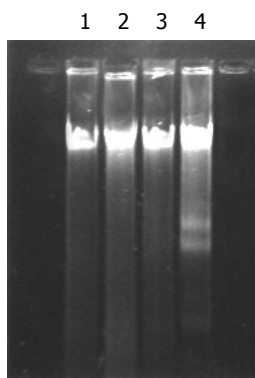


图3 DNA ladder检测RNA干扰*DcR3*基因后细胞凋亡情况. 1: 空白对照组, 未见DNA ladder; 2: 脂质体转染组, 未见DNA ladder; 3: 非特异性siRNA转染组, 未见DNA ladder; 4: 特异性*DcR3*-siRNA4转染组, 见DNA ladder. *DcR3*: 诱捕受体3.

高于癌旁组和正常对照组, *DcR3*表达水平与癌组织MVD值呈正相关. Wu等^[12]对胃癌研究发现血清*DcR3*的水平与肿瘤的TNM分期和分化程度相关, TNM分期 $\leq T2/N1/M0$ 的患者血清*DcR3*的水平低于 $>T2/N1/M0$ 的患者, 肿瘤分化不良患者比高分化者血清*DcR3*水平高. Takahama等^[13]在也是对胃癌研究中发现, *DcR3* mRNA过表达患者的生存期短于*DcR3*不表达的患者. Shen等^[14,15]和陈罡等^[16,17]以前的研究结果发现HCC组织存在*DcR3* mRNA和蛋白的过表达, 而癌旁组织无阳性表达, *DCR3*的高表达可影响凋亡并与肿瘤大小、TNM分期、浸润或转移有关. 杨梅松竹等^[18]研究结果显示HCC组和肝硬化组血清*DcR3*水平均明显高于正常对照组, HCC血清

*DcR3*水平与伴有肝硬化、包膜浸润和复发转移有关, *DcR3*蛋白在HCC癌组织中的表达与血清水平呈正相关. 若能抑制*DcR3*的表达, 则可使肿瘤细胞失去*DcR3*的保护作用, 诱导肿瘤细胞凋亡, 降低肿瘤的转移和复发率, 改善患者的预后.

RNAi技术是新发展的一种特异抑制基因表达的技术, 主要是利用外源导入的dsRNA启动细胞内的RNAi机制, 诱导同源序列的基因表达受抑制, 是一种序列特异的转录后基因沉默, 主要应用于基因功能和基因治疗学方面的研究^[19-23]. Elbashir等研究发现外源导入的<30个碱基的siRNA可对哺乳动物细胞造成特异性基因的抑制, 但不会激活细胞干扰素系统造成非特异性基因降解和细胞死亡, 而且体外合成的siRNA具有抑制作用强、稳定性高、细胞摄取相对容易等优点^[24], 这一研究成果对在哺乳动物细胞进行RNAi试验起到了极大的指导作用.

目前大部分研究中所报道的siRNA都是利用21个碱基对的短双链RNA, 主要是因为体内Dicer酶消化双链RNA的产物为21nt^[24-26]. 而我们实验中也使用21个碱基对的siRNA. 进行RNAi实验时, siRNA能否对靶基因产生沉默效应, 关键在于siRNA序列的结构, 不同的siRNA序列沉默基因的效率差别很大. 因此, 理性设计有效的siRNA就成为实验成功的一个关键因素. 虽然Elbashir等^[27]提出的siRNA设计方法具有一定的指导意义, 但是siRNA筛选效率仍然很低. 因此本实验设计了多条siRNA, 并通过半定量

表 4 RNA干扰DcR3基因后细胞迁移能力的变化 (mean ± SD)

时间	细胞相对迁移率(%)			
	空白对照组	脂质体转染组	非特异性siRNA转染组	特异性DcR3-siRNA4转染组
24 h	26.18 ± 1.93	25.83 ± 3.22	25.02 ± 2.75	14.05 ± 2.92 ^{bdf}
48 h	72.78 ± 7.02	70.45 ± 7.92	71.53 ± 8.00	40.13 ± 1.94 ^{bdf}
72 h	95.83 ± 4.08	96.33 ± 3.55	97.31 ± 3.47	50.51 ± 3.52 ^{bdf}

^b $P < 0.01$ vs 空白对照组, ^d $P < 0.01$ vs 脂质体转染组, ^f $P < 0.01$ vs 非特异性siRNA转染组.

同行评价

本研究通过 siRNA 有效阻断人肝细胞癌细胞系(HepG2)DcR3 mRNA 转录和蛋白的合成, 进而使 HepG2 细胞凋亡增加和迁移能力降低. 本研究是以人肝癌细胞为靶细胞, 诱捕受体(DcR3)为治疗靶点的实验研究, 对于探索肝癌基因治疗的可能性提供了实验基础.

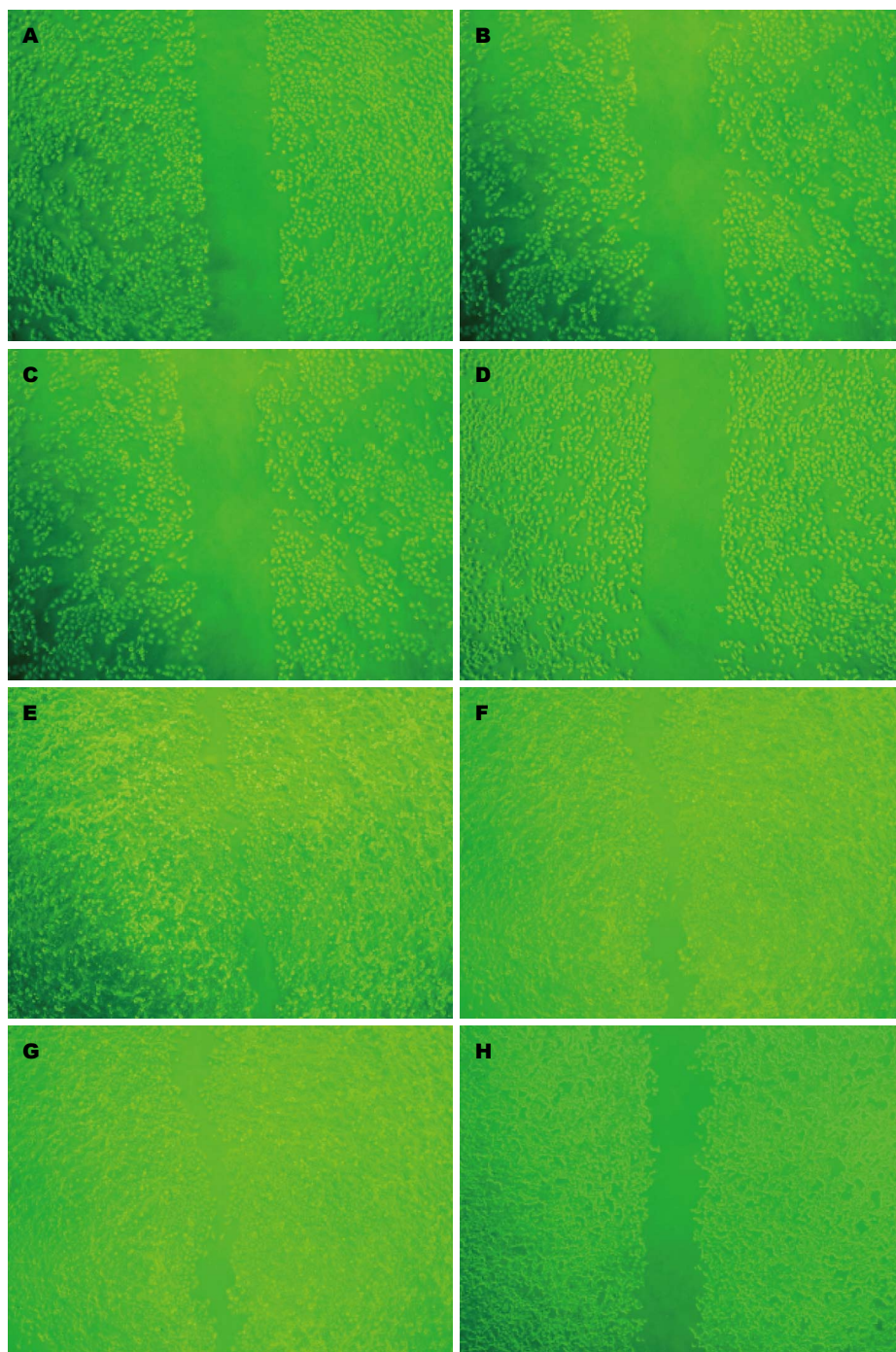


图 4 RNA干扰DcR3基因后对HepG2细胞迁移能力的影响(×40). 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞相对迁移率低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组. A: 0 h 空白对照组; B: 0 h 脂质体转染组; C: 0 h 非特异性siRNA转染组; D: 0 h DcR3-siRNA4转染组; E: 72 h 空白对照组; F: 72 h 脂质体转染组; G: 72 h 非特异性siRNA转染组; H: 72 h DcR3-siRNA4转染组.

RT-PCR筛选干扰效果最佳的一条siRNA进行后续实验。半定量RT-PCR结果显示,各DcR3特异性siRNA均有抑制DcR3 mRNA表达的作用,其中以siRNA4的作用更明显,干扰作用达62.9%, siRNA1、siRNA2、siRNA3的干扰作用分别为60.7%、32.1%、23.0%,而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3 mRNA的表达无影响。将筛选出的siRNA4转染HepG2细胞,免疫细胞化学染色结果显示其可明显抑制DcR3蛋白的表达。为后续功能实验顺利进行奠定了基础。

细胞凋亡分为早期凋亡与晚期凋亡两个阶段。Annexin V和PI双染法检测的是凋亡早期细胞;DNA ladder检测的是凋亡晚期细胞,出现DNA ladder说明有足够多的凋亡晚期细胞,故我们应用Annexin V-FITC和PI双染法和DNA ladder实验分别检测凋亡早期和晚期细胞。转染后72 h,流式细胞仪检测细胞凋亡率结果显示,特异性DcR3-siRNA转染组细胞与空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞相比,凋亡率明显增高。DNA ladder实验显示特异性DcR3-siRNA转染组出现DNA ladder,而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组均未出现DNA ladder,说明特异性DcR3-siRNA转染组细胞的凋亡率明显高于其他组细胞。这些结果与以前的研究者用DcR3反义mRNA和DcR3中和性抗体处理肝癌细胞所得的结果一致^[28-31]。表明以RNAi技术抑制DcR3表达后,肿瘤细胞失去DcR3保护,循FasL、LIGHT或其他凋亡途径进入死亡程序。

通过划痕实验,我们发现转染后24、48和72 h各个时间点特异性DcR3-siRNA转染组细胞相对迁移率均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组,表明特异性DcR3-siRNA可以明显的降低肝癌细胞的运动和迁移能力,在DcR3存在的情况下,肝癌细胞能够更快速的运动,从而发生临床上的浸润、复发和转移。这与陈罡等用DcR3中和性抗体处理肝癌细胞所得的结果一致^[32]。Yang等^[8,9]证实,DcR3在体内可诱导血管形成,促进肿瘤的生长和转移。我们在体外实验观察到特异性DcR3-siRNA可以直接抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,其具体机制未明,值得进一步深入研究。

通过以上实验,我们发现,DcR3基因沉默可以诱导肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,表明DcR3在肿瘤的免疫逃逸和复发、转移中发挥重要作用。以DcR3为靶点进行

基因治疗可以作为临床治疗肝细胞癌的新方向。

4 参考文献

- 1 Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, Roy M, Kischkel FC, Dowd P, Huang A, Donahue CJ, Sherwood SW, Baldwin DT, Godowski PJ, Wood WI, Gurney AL, Hillan KJ, Cohen RL, Goddard AD, Botstein D, Ashkenazi A. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396: 699-703 [PMID: 9872321 DOI: 10.1038/25387]
- 2 Yu KY, Kwon B, Ni J, Zhai Y, Ebner R, Kwon BS. A newly identified member of tumor necrosis factor receptor superfamily (TR6) suppresses LIGHT-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274: 13733-13736 [PMID: 10318773 DOI: 10.1074/jbc.274.20.13733]
- 3 Migone TS, Zhang J, Luo X, Zhuang L, Chen C, Hu B, Hong JS, Perry JW, Chen SF, Zhou JX, Cho YH, Ullrich S, Kanakaraj P, Carrell J, Boyd E, Olsen HS, Hu G, Pukac L, Liu D, Ni J, Kim S, Gentz R, Feng P, Moore PA, Ruben SM, Wei P. TL1A is a TNF-like ligand for DR3 and TR6/DcR3 and functions as a T cell costimulator. *Immunity* 2002; 16: 479-492 [PMID: 11911831 DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00283-2]
- 4 Roth W, Isenmann S, Nakamura M, Platten M, Wick W, Kleihues P, Bähr M, Ohgaki H, Ashkenazi A, Weller M. Soluble decoy receptor 3 is expressed by malignant gliomas and suppresses CD95 ligand-induced apoptosis and chemotaxis. *Cancer Res* 2001; 61: 2759-2765 [PMID: 11289159]
- 5 Shi G, Wu Y, Zhang J, Wu J. Death decoy receptor TR6/DcR3 inhibits T cell chemotaxis in vitro and in vivo. *J Immunol* 2003; 171: 3407-3414 [PMID: 14500635]
- 6 Wan X, Shi G, Semenuk M, Zhang J, Wu J. DcR3/TR6 modulates immune cell interactions. *J Cell Biochem* 2003; 89: 603-612 [PMID: 12761893 DOI: 10.1002/jcb.10523]
- 7 刘忠臣, 罗芳洪, 陈彩霞, 杨东海, 范鑫, 程小峰, 庄国洪. 肝癌发展中FasL及其受体Fas/DcR3的表达分析. *免疫学杂志* 2010; 26: 242-245
- 8 Yang CR, Hsieh SL, Teng CM, Ho FM, Su WL, Lin WW. Soluble decoy receptor 3 induces angiogenesis by neutralization of TL1A, a cytokine belonging to tumor necrosis factor superfamily and exhibiting angiostatic action. *Cancer Res* 2004; 64: 1122-1129 [PMID: 14871847 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-0609]
- 9 Yang CR, Hsieh SL, Ho FM, Lin WW. Decoy receptor 3 increases monocyte adhesion to endothelial cells via NF-kappa B-dependent up-regulation of intercellular adhesion molecule-1, VCAM-1, and IL-8 expression. *J Immunol* 2005; 174: 1647-1656 [PMID: 15661928]
- 10 陈张铭, 任四兰, 张蕾. 陷阱受体3在肝细胞性肝癌中的表达及其对血管生成的影响. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 1792-1792
- 11 陈张铭, 张阳德, 任四兰, 张蕾. 肝细胞性肝癌中DcR3的表达及其对微血管密度的影响. *长沙医学院学报* 2007; 12: 18-23
- 12 Wu Y, Han B, Sheng H, Lin M, Moore PA, Zhang J, Wu J. Clinical significance of detecting elevated serum DcR3/TR6/M68 in malignant tumor patients. *Int J Cancer* 2003; 105: 724-732 [PMID: 12740925 DOI: 10.1002/ijc.11138]
- 13 Takahama Y, Yamada Y, Emoto K, Fujimoto H,

- Takayama T, Ueno M, Uchida H, Hirao S, Mizuno T, Nakajima Y. The prognostic significance of overexpression of the decoy receptor for Fas ligand (DcR3) in patients with gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2002; 5: 61-68 [PMID: 12111580 DOI: 10.1007/s101200200011]
- 14 Shen HW, Gao SL, Wu YL, Peng SY. Overexpression of decoy receptor 3 in hepatocellular carcinoma and its association with resistance to Fas ligand-mediated apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5926-5930 [PMID: 16273601]
- 15 Shen HW, Wu YL, Peng SY. [Overexpression and genomic amplification of decoy receptor 3 in hepatocellular carcinoma and significance thereof]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2003; 83: 744-747 [PMID: 12899749]
- 16 陈罡, 罗殿中, 王云, 廖芝玲, 张美艳. 肝细胞癌中DcR3表达和癌细胞凋亡的关系研究. *中华病理学杂志* 2007; 36: 113-117
- 17 陈罡, 罗殿中. 原发性肝细胞癌中诱捕受体3的过度表达及临床意义. *广东医学* 2006; 27: 1438-1440
- 18 杨梅松竹, 陈罡, 党裔武, 陈霜, 罗殿中. 肝细胞癌患者血清DcR3水平与临床意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2042-2047
- 19 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811 [PMID: 9486653 DOI: 10.1038/35888]
- 20 Hutvagner G. Small RNA asymmetry in RNAi: function in RISC assembly and gene regulation. *FEBS Lett* 2005; 579: 5850-5857 [PMID: 16199039 DOI: 10.1016/j.febslet.2005.08.071]
- 21 Scherer LJ, Rossi JJ. Approaches for the sequence-specific knockdown of mRNA. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 1457-1465 [PMID: 14647331 DOI: 10.1038/nbt915]
- 22 Ait-Si-Ali S, Guasconi V, Harel-Bellan A. [RNA interference and its possible use in cancer therapy]. *Bull Cancer* 2004; 91: 15-18 [PMID: 14975801]
- 23 Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244-251 [PMID: 12110901 DOI: 10.1038/418244a]
- 24 Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498 [PMID: 11373684 DOI: 10.1038/35078107]
- 25 Czauderna F, Fechtner M, Dames S, Aygün H, Klippel A, Pronk GJ, Giese K, Kaufmann J. Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 2705-2716 [PMID: 12771196 DOI: 10.1093/nar/gng066]
- 26 Zou GM, Wu W, Chen J, Rowley JD. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in differentiated mouse ES cells. *Biol Cell* 2003; 95: 365-371 [PMID: 14519553 DOI: 10.1016/S0248-4900(03)00079-0]
- 27 Elbashir SM, Harborth J, Weber K, Tuschl T. Analysis of gene function in somatic mammalian cells using small interfering RNAs. *Methods* 2002; 26: 199-213 [PMID: 12054897 DOI: 10.1016/S1046-2023(02)00023-3]
- 28 吴泰璜, 段伟宏, 苏忠学, 吴亚光. 反义DcR3 RNA转染诱导肝癌细胞凋亡的作用. *中华微生物学和免疫学杂志* 2005; 25: 799-802
- 29 段伟宏, 苏忠学, 吴泰璜. DcR3反义RNA与顺铂对肝癌细胞凋亡影响的比较. *中国现代普通外科进展* 2005; 8: 90-92
- 30 段伟宏, 苏忠学, 吴泰璜. 转染反义DcR3真核表达载体协同氟尿嘧啶诱导肝癌细胞凋亡. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 98-100
- 31 陈罡, 党裔武, 罗殿中. 诱捕受体3和中性抗体在HepG2细胞凋亡中的作用. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 791-792
- 32 陈罡, 罗殿中, 党裔武. DcR3对肝癌细胞生长迁移的影响. *陕西医学杂志* 2009; 38: 344-347

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝脏分段解剖学的研究进展

刘巧云, 马心逸, 喻智勇

■背景资料

尽管从第一部肝脏解剖学著作 Francis Glisson 的《肝脏解剖学》诞生到现在已有将近400年的历史,但是直到19世纪50-60年代对肝脏内部解剖结构的认识才逐渐清晰,并产生了多种分段方法,然而由于肝脏内部结构的自身复杂性,各种分段方法都存在诸多的争论。

刘巧云, 马心逸, 喻智勇, 昆明医科大学第一附属医院肝胆外科 云南省昆明市 650032

刘巧云, 硕士, 主要从事肝脏外科的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81060041

作者贡献分布: 本文综述由刘巧云与马心逸共同完成; 喻智勇负责审校。

通讯作者: 喻智勇, 副教授, 副主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院肝胆外科。

rsyby@139.com

电话: 0871-65324888

收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2013-06-03

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-09-28

Advances in research of segmental anatomy of the liver

Qiao-Yun Liu, Xin-Yi Ma, Zhi-Yong Yu

Qiao-Yun Liu, Xin-Yi Ma, Zhi-Yong Yu, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060041

Correspondence to: Zhi-Yong Yu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. rsyby@139.com

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

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-09-28

Abstract

Since the concept of liver segmental anatomy was first put forward by Francis Glisson in 1654, Hjortsjo segmentation, Healey arteriobiliary segmentation, Couinaud portal and hepatic vein segmentation have been proposed. Although the nomenclature of hepatic anatomy and resections was introduced in the international conference of HPB held in Brisbane, Australia in 2000, the development of liver anatomical techniques (such as iconography and virtual digital technique) as well as the constantly updating knowledge about segmentation of the liver lobe and understanding of the anatomy have raised some new issues. Retrospective analysis and understanding of the features of various segmentation methods and the rules of clinical practice will help us find the most suitable idea of "precise liver resection" in nowadays.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver segmentation; New ideas of segmentation; Liver resection

Liu QY, Ma XY, Yu ZY. Advances in research of segmental anatomy of the liver. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(27): 2780-2786 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2780.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2780>

摘要

自1654年英国人Francis Glisson在其著作《肝脏解剖学》中首次提出肝段解剖学概念,对肝脏解剖分段的认识先后出现了Hjortsjo分段、Healey动脉/胆管分段、Couinaud门静脉/肝静脉分段等十几种肝脏分段的方法。尽管2000年国际肝胆胰学会在澳大利亚布里斯班会议上统一对肝脏解剖及肝脏切除术进行了命名。但是随着肝脏解剖研究技术(例如影像学、虚拟数字化研究等)的不断发展,对肝脏分叶、分段解剖及其应用的认识仍在不断更新。回顾过去的肝脏分段方法,深入的了解各种分段方法的特点,结合临床实际,寻求适合当代“精准肝切除”理论的肝脏解剖分段的新思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝脏分段法; 分段新思路; 肝切除术

核心提示: 近半个世纪以来,对于肝脏解剖的认识取得了迅猛的发展,肝脏外科也因此一次次突破所谓的手术禁区。每一次肝脏解剖有新的认识都会引起肝脏外科技术理论的革新。回顾过去的各种分段方法,从而寻求适应当代肝脏外科新理论的新分段思路。

刘巧云, 马心逸, 喻智勇. 肝脏分段解剖学的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2780-2786 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2780.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2780>

0 引言

1654年英国人Francis Glisson在其著作《Anatomia hepatis》中首次描述肝段解剖学的概念^[1]。1891年德国人Rex、英国人Cantlie提出肝左、

■同行评议者

李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

右叶分界线为Rex-Cantlie线^[2]. 进入20世纪50年代, 肝脏外科进入了解剖学与外科学相结合而推动肝脏外科发展的时代^[3], 而后各国学者相继提出了多种肝脏分叶、分段方法, 其中, 相对经典且应用较为广泛的主要是Healey等^[4-6]以肝动脉、胆管走形为基础分段法(北美分段法)和Couinaud^[7]、Bismuth^[8]等以门静脉、肝静脉走形为基础分段法(法国分段法). 尽管2000年国际肝胆胰学会在澳大利亚布里斯班会议上统一对肝脏解剖及肝脏切除术进行了命名^[9], 2000-10我国肝胆外科专家组也在“第六届全国肝脏外科学术会议”上提出了一组肝脏解剖和肝脏手术切除的统一的英文名称^[10]. 但是, 由于存在不同地域的学者对肝脏应用解剖学认识的差异, 且肝脏解剖研究技术(例如影像学、虚拟数字化研究等)仍在不断发展, 对肝脏分叶、分段解剖及其应用的认识仍在不断更新.

1 传统的肝脏分段方法

1.1 Hjortsjo分段法和Healey分段法 1951年瑞典学者Hjortsjo^[11]通过对肝脏管道铸型腐蚀标本和胆道造影结果的观察, 将肝脏以主裂为界分为左、右两半肝. 左半肝以附裂为界(相当于镰状韧带与左矢状裂)分为中部分、外侧部分, 外侧部分又以段间裂(平行于右段间裂)分为背外侧段与腹外侧段; 右肝以背段裂和腹段裂分为背尾侧段、中段、腹头侧段.

1952年美国学者Elias等^[12]通过对8例成人、2例儿童、4例婴儿、1例胎儿新鲜的肝脏腐蚀铸型标本及3例尸体标本, 20例胆管造影标本, 3只猫、5只成犬、3只婴儿犬的肝脏进行铸型. 以各血管鞘所供应的肝脏区域为界, 认为肝脏的右主干分出中间支、外侧支、右下支、尾状叶右侧小分支及尾状突支; 左主干分出上支、中间支、左下支、方叶支及左尾状叶小分支. 在外侧区域, 门静脉、肝动脉、胆管是相互伴随的, 而在门板区这并不如此. 并且从胚胎学的角度提出, 左肝在胎儿期是由脐静脉供应, 起初是比右肝大的, 出生后由于左侧门静脉血流反转, 左肝尺寸才开始逐渐减小.

1953年美国学者Healey等^[6]进一步观察研究肝脏局部解剖与肝动脉/胆管系统, 提出了以Rex-Cantlie线将肝脏分为左、右两叶; 以右段间裂将右叶分为前、后两段, 以左段间裂将左叶分为中段、外侧段, 尾状叶作为一个独立的部分单独称为一个叶. 左、右叶的4个段中, 每个

肝段根据其胆管引流情况又各自分为上、下两区, 尾状叶根据其胆管引流情况被应该被划分为3个部分, 分别是尾状突、左尾状叶部分、右尾状叶部分.

1.2 Goldsmith和Woodburne分段法 1957年美国学者Goldsmith和Woodburne根据活体肝脏研究, 以门静脉和肝静脉的走形为基础, 提出了一种新的分段方法他们将肝脏以通过下方的胆囊窝和上方肝中静脉的垂直平面分为左、右两叶, 左叶以下方的圆韧带到上方肝左静脉的垂直平面分为外、中两段, 右叶以肝右静脉走形的垂直平面分为前、后两段, 每个段又分为上、下两个亚段. 尾状叶作为一个独立的叶, 接受肝左、肝右动脉的血液供应, 其肝静脉直接汇入下腔静脉. 3条主要肝静脉走形于肝段之间, Glisson鞘进入每个段的中央. 但是在Goldsmith和Woodburne的分段中对于主段中亚段的划分并没有提出明确的分段界限^[13].

1.3 Couinaud分段法 1957年法国学者Couinaud^[7]通过对100多个离体肝脏的门静脉^[14]、肝固有动脉^[15]、胆管系统^[15,16]进行解剖研究, 以由门静脉、肝固有动脉、胆管系统组成的Glisson鞘在肝内的走形, 主要是以门静脉的走形为基础, 以肝静脉的3个主要分支为分区界线, 同时结合肝的自然沟、裂、窝和韧带, 提出了以肝静脉三个主要分支为界, 将肝脏划分为左外、右外、左旁正中、右旁正中4个扇区, 而后每个扇区又被门静脉左、右支的水平切面分成上、下两段, 由于尾状叶的特殊性, 最初Couinaud将其定义为单独的I段, 后来对于尾状叶认识不断深入, 1989年Couinaud又将其重新定义, 称其为背扇区^[17]. 1994年又将背扇区分为I、IX两个段^[18]. 这就是为何Couinaud门静脉分段法出现8个段或者9个段的原因.

1.4 吴孟超分段法 1960年第二军医大学吴孟超等^[19]采用肝内管道系统灌注法研究肝内血管、胆管的分布规律, 结合肝内分叶的自然分界线, 即肝裂, 提出了将肝脏分成左、右、前、后及尾状叶, 左外和右后分成上、下两段, 尾状叶分为左、右两段的五叶六段法. 后来觉得尾状叶较小, 将其分为左、右两段缺乏临床手术意义, 于是后来将其合并而改称为五叶四段法.

1.5 Gupta分段法 1976年印度学者Gupta等^[20]通过对85例死亡24 h内的肝脏标本进行铸型, 基于肝门静脉^[21]、胆管^[22]、动脉^[23]走形提出通过“功能性平面(functional plane)”将肝脏分为

■ 研发前沿
肝脏解剖作为肝脏外科的基础, “精准肝切除术”作为当代肝脏外科的新理念, 为适应“精准肝切除术”的理论体系, 肝脏影像解剖、虚拟数字化三维重建及比较解剖是当前的研究热点.

■创新盘点

本文将对过去的各国、各区域肝脏解剖分段法及其分段依据进行的详细的论述,并且对各种分段方法之间存在的差异进行细致的比较,同时介绍了该领域的最新研究成果,寻求新的研究趋势。

“生理性的左、右两叶(physiological lobes)”,这个平面在肝脏的表面是从胆囊窝至下腔静脉。也像Healey等一样将肝脏分为右前、右后、中、左外4个主段8个亚段,尾状叶被单独看成第9段。但其对各段的命名顺序与Healey等完全不同,其第1段为右后上段。同时指出,完全符合这一标准9段的样本只占总样本的48.23%,而另外一半的样本中都或多或少存在变异。并且认为Healey等之所以没有提及那些变异,是因为Healey等观察标本时仅仅只是基于胆管,而没有将门静脉和肝动脉归入其中。所以Gupta等指出在术前对肝脏实行胆管造影或静脉造影是很有必要的。

1.6 Bismuth分段法 1982年法国学者Bismuth^[15]结合Goldsmith和Woodburne分段法与Couinaud分段法。他结合了三条肝主静脉所形成的平面和通过左右门静脉的一水平平面,将肝脏分为左、右半肝,右半肝分为前内、后外两个扇区,每个扇区分成为上下两个段(这与Goldsmith和Woodburne分段法相同,而且适合超声和CT等放射学分段)。左半肝分为左前、左后两个扇区(这与Couinaud门静脉分段法分法相同,是体外肝脏平面分段法)。并且将IV段分为IVa段和IVb段两个亚段。

1.7 Takasaki K(高崎健)分段法 1986年日本学者Takasaki^[24,25]从临床手术的角度,根据肝脏血供来源于Glisson系统的三个二级分支,每个二级分支供应一个肝段,同时加上一个直接接受一级分支营养的尾状叶,然后又各肝段按三级分支分成6-8个单元(即锥状单元)。提出了将肝脏分为肝左段(Couinaud S2、3、4)、肝中段(Couinaud S5、8)、肝右段(Couinaud S6、7)三段和一个尾状叶(Couinaud S1、9)的Takasaki K分段法。

1.8 Akihiro Cho(竜崇正)分段法 1999年日本学者竜崇正(Cho A)等^[26]以门静脉走形、肝静脉回流为基础,结合影像学、胚胎学。提出将肝脏分为左肝的外上段、外下段和内侧段,右肝^[27]分为前腹段、前背段、后段,尾状叶看成一段,共7段的分段法。并且提出了一个新的概念—隐藏在肝里的第3扇门:前裂^[28],在这个前裂内走行着一支前裂静脉。并在其论著中指出门静脉是左、右对称的,后段对应Couinaud S2,前背段对应Couinaud S3,前腹段对应Couinaud S4,门静脉右前主干对应左门静脉脐部。肝静脉也是对称的,以肝中静脉为中轴,肝右静脉相对肝左静

脉,脐裂静脉相对前裂静脉。

1.9 1-2-20概念 2009年瑞士学者Fasel等^[29]通过对25例门静脉铸型解剖学标本进行螺旋CT扫描,发现来自左、右门静脉二级分支水平的分支不是8支,而是9-44支,平均20支。虽然他们的发现与Couinaud八段分法存在矛盾,但他们认为Couinaud八段分法对于肝门静脉的二级的各个分支进行集合重组而得出的结论。于是他们建议将肝脏在门静脉主干水平称为1个门静脉区,在左、右门静脉一级分支水平分为左、右2个区,在左、右门静脉二级分支水平分为20个区,就是“1-2-20概念”。

1.10 统一肝脏解剖术语 1965年,第八届国际解剖学联合会议同意使用Healey动脉/胆道系统分段法。

1998年,解剖命名联合委员会(FCAT)建议使用Couinaud门静脉/肝静脉分段法。将I段定义在尾状叶,剩下的II-VIII段,以II段为起始位置,在肝膈面以顺时针方向依次排列^[30]。

2000年国际肝胆胰协会(International Hepato-Pancreato-Biliary Association, IHPBA)在Brisbane提出了国际统一的肝脏解剖及外科手术命名方法^[31]。

2 各肝脏分段方法之比较

2.1 各种分段方法基础的差异 目前全世界存在多种类型的肝脏分段法,各地采用的分段法不尽相同。比如,在美国放射学界,一般采纳Goldsmith和Woodburne分段法;在亚洲和欧洲则更倾向于采纳Couinaud分段法;随着肝脏外科的不断实践,Takasaki K根据其分段法提出的“Glisson蒂横断式肝切除术”理论,使肝脏区域性血流控制和解剖性病灶切除技术水平得到了很大的提升而越来越被重视。各分段方法所基于的肝脏解剖基础一般存在以下几种:如Hjortsjo分段法、Hans Elias分段法、Healey分段法以肝动脉/胆管系统走形为解剖基础, Couinaud分段法、Bismuth分段法、Goldsmith和Woodburne分段法、吴氏分段法以门静脉/肝静脉走形为解剖学基础, S.C.Gupta等则以Glisson鞘内的肝门静脉、动脉、胆管各自走形为解剖学基础, 竜崇正等则以门静脉走行、肝静脉回流为基础,并结合了胚胎学及影像学。而Takasaki K分段法以肝脏血供Glisson系统来源为解剖学基础, 1-2-20概念则单独以门静脉走形为解剖为基础。

2.2 各分段法命名之间的比较 对个分段法命名

表 1 各分段法命名之间的比较

Couinaud分段法	左半肝				右半肝				尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段	Ⅸ段	
	左外扇区	左旁正中扇区			右旁正中扇区		右外扇区		背扇区		
Healey分段法	左外段		左内段		右前段		右后段		尾状段		
	左外上区	左外下区	左内上区	左内下区	右前下区	右前上区	右后下区	右后上区	左尾状叶部分	右尾状叶部分	尾状突
Goldsmith分段法	外侧段		中段		前段		后段		尾状段		
	上段	下段	上段	下段	下段	上段	下段	上段			
吴孟超5叶4段法	左外叶		左内叶		右前叶		右后叶		尾状叶		
	上段	下段			下段	上段					
S.C.Gupta分段法	外侧段		中段		前段		后段		尾状叶		
	5段	6段	7段	8段	4段	3段	2段	1段	9段		
Bismuth分段法	后扇区		前扇区		前内扇区		后外扇区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段		
Takasaki分段法	肝左段				肝中段		肝右段		尾状叶		
竜崇正分段法	外侧叶		内侧叶		前叶		后叶		尾状叶		
	外上段	外下段	内侧段		前腹段		后段				
					前背段						
FCAT命名1998年	左外扇区		左中扇区		右中扇区		右外扇区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段		
Brisbane命名	左外区		左内区		右前区		右后区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段		Ⅸ段

■应用要点

本文通过对过去的各国、各区域肝脏解剖分段法及其分段依据进行的详细的阐述,对各种分段方法之间存在的差异进行细致的比较,为肝脏外科临床医师深入认识肝脏解剖提供参考,降低术中风险减少术后并发症。

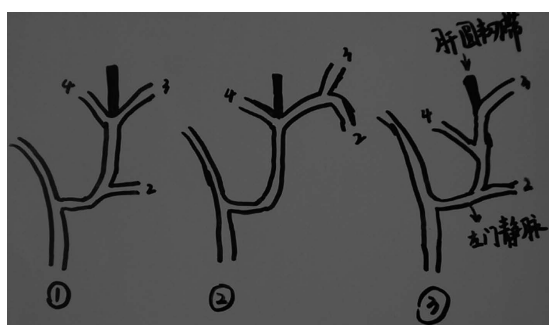


图 1 左肝门静脉供应的描述。(1): Couinaud的描述; (2): Healey的描述; (3): 吴孟超的描述。

的比较如表1。

2.3 对于左肝认识差异

2.3.1 对于左肝门静脉的认识不同: 门静脉左支主干分为横部、角部、矢状部和囊部4段。Couinaud、竜崇正等^[32]认为门静脉2段的分支和门静脉脐部是门静脉横部的两个终末支,门静脉2段分支位于门静脉角部,3、4段的分支由门静脉囊部发出。而Healey^[6]则认为在左肝门静脉囊部同时分出左内段的分支和左外段的共干,而后发出左外段上、下区的分支,同时Healey等认为门静脉左支是不规则的,故他使用了动脉/胆管系统的分支作为其分段的基础。吴孟超则认为左肝门静脉角部外侧缘发出2段分支,门静

脉囊部外侧缘发出3段分支,门静脉矢状部内侧缘发出4段分支(图1)。

2.3.2 对于左肝Ⅲ段的认识不同: 尽管Takasaki^[24]没有对左肝进行细分,而对于Couinaud八段的第Ⅲ段Healey、Goldsmith、Woodburne、吴孟超等^[6,13,19]将其并入左外侧区,他们认为左外区与左内区的分解线应该是传统意义上得左右半肝的分界线,即镰状韧带和脐裂。而Couinaud、Ishibashi等^[33]很多学者却更愿意把他看成为左内区的一部分,他们认为肝左静脉主干走行于Ⅱ、Ⅲ之间,且门静脉左支的分支形态是在角部分出P2与门静脉矢状部,再由矢状部在左侧分出P3,向右侧分出P4,所以P3、P4应该属于3级分支,而P2是2级分支。如此无论是以肝静脉来划,还是以门静脉来的2、3级分支来划分,Ⅲ段都应该归入左内区。后来Couinaud又从胚胎学的角度进行研究,认为肝Ⅱ段的发育早于Ⅲ、Ⅳ两段^[34]。

2.3.3 对于左肝Ⅳ的认识不同: 大部分学者对于Ⅳ段没有进行在分段,将其看成为一个总体部分,而日本学者Onishi^[35]及Kawarada^[36]则将Ⅳ段分为下方的Ⅳa亚段及上方的Ⅳb段两个亚段以利于肝门部胆管癌及胆囊癌的手术切除范围的确定,尽可能的保存正常肝组织。即使对于Ⅳ段

■同行评价

本文对肝脏分段的解剖的历史、现状及趋势进行了详尽的论述,思路清晰,资料详实,能够反映该领域的状况。

亚段的划分,我国与日本在命名上也存在差异,两者的位置刚好相反。同时对于P4的来源及其分支数目也存在着诸多争议,以门静脉为分段基础的学者认为其发自门静脉矢状部,而以动脉/胆管为分段基础的学者则认为其发自左门静脉横部。对于其分支数是1、2甚至3支也一直没有得到完全的定论。

2.4 对于右肝的认识差异

2.4.1 对于右前段的认识差异: Goldsmith^[13]、Couinaud^[7]、Healey^[6]等将右前段定义为肝中静脉与肝右静脉之间的区域,且将其分为上、下两段。而Takasaki^[24]、吴孟超等^[19]学者则将其看作为一个总体以便于手术切除。而目前以日本竜崇正^[37-39]、Kogure^[40]、国内赵振美等^[41]为代表的学者,通过对CT三维重建研究,建议将右前叶分为腹侧段及背侧段,而不是上、下两段,前腹段由肝中静脉引流,前背段由肝右静脉引流,前腹段与前背段的分界线是位于其中的前裂静脉。谢于等^[42]则基于肝内门静脉解剖将右前叶分为腹侧段部分(S8v+S5)和背侧段部分(S8d)。日本学者Takayasu等^[43]则把S8门静脉支分为4个亚区支,即P8a(腹支)、P8b(背外支)、P8c(背支)、P8d(内支)。

2.4.2 对于右后段的认识差异: 对于右后段,虽然各学者之间命名存在差异,但大部分学者均将其分为上、下两段,且上、下两段的分界线为Glisson鞘一级分支水平面。而近些年竜崇正等^[44]对其提出了质疑,他们通过对门静脉进行3D重建,发现右后支的二级分支只有30%的存在明显的上、下两个分支,70%的二级分支存在多个细小的分支,故他们建议将右后段看称为一个整体部分。

2.5 对于尾状叶认识差异 Healey等^[6]先将尾状叶分为固有尾状叶及尾状突,而后以肝中裂为界将固有尾状叶(caudate lobe proper)分为左尾状叶部分、右尾状叶部分,加上尾状突为3部分。因为一般情况下尾状叶存在三支独立引流的肝管,且相互汇合及汇入左右肝管的形式多种多样。而Couinaud等^[7,45]对于尾状叶的分法曾在两种,一种是1957年提出的肝段划分法将其定义为I段(背扇区),而后于1989年将尾状叶搁置一边,以占肝背侧而且在下腔静脉前面的肝门背侧形成肝静脉下面的区域定义为肝背侧区,且将相当于以往I段的左侧部分称为I_l,右侧部分称为I_r,I_r的门静脉分为下腔右静脉前面的b-静脉,右缘的c-静脉,下腔静脉右背侧的d-静

脉。1994年Couinaud^[18]提出将I_r段定义为IX段,以适应肝尾状叶部分切除术的要求。2002年我国学者刘允怡等^[46]对Couinaud所提出的肝IX段做了详细的说明,将IX段定义在I段的右侧和下腔静脉的右前方,IX段分为IXb、IXc、IXd三个亚段,IXb位于肝右静脉与肝中静脉之间,IXc位于肝右静脉的下方,IXd位于肝右静脉的后方。吴孟超等^[19]则认为尾状叶左、右之间的血管分布多是相互交错,且肝静脉的引流都是极短小的静脉,因此,有时在解剖上亦难以加以划为段,同时临床上因其体积小,更难以分段,故不主张将其分为两段。Takayama等^[47]经过临床实践的先游离肝短静脉,使尾状叶与腔静脉分离,并创造了单独全尾状叶切除的方法,故将认为将其看做一个段比较合适。

3 结论

肝脏解剖学虽然有多种分段方法,但目前普遍使用的是Couinaud门静脉分段法。即使分类方法很多,但每一种分段法不可避免存在局限性,并有一定的争议。比如,被广泛应用的Couinaud分段法,其真实的解剖结构与理论上的肝段分界线有较大的差异,且更为复杂^[48]。又比如,Takasaki分段法则是基于临床手术的研究而提出的分段方法,尽管在临床实践中起到了十分积极的作用^[49],然而该分段方法每一段的体积30%,且分段时只到达主干的二级结构,似乎显得有点过于粗略。每一种肝脏解剖学的分段方法都于其所处的时代相适应。随着影像学技术的发展、肝脏外科技术的革新以及“精准肝切除”概念^[50,51]的提出,从实地解剖学、胚胎发生学、影像学 and 比较解剖学等方面对肝脏分叶、分段进行更深层次的研究,使肝脏分叶、分段更符合其客观实际并使临床获益,将是肝脏分段应用解剖研究新的方向。

4 参考文献

- 1 Glisson F. Anatomia hepatis. London: Pullein, 1654
- 2 Cantlie J. On a new arrangement of the right and left lobes of the liver. *J Anat Physiol* 1898; 32: IV-IX
- 3 黄志强. 肝脏外科技术的发展. *消化外科* 2002; 1: 1-6
- 4 Healey JE, Schroy PC, Sorensen RJ. The intrahepatic distribution of the hepatic artery in man. *J Int Coll Surg* 1953; 20: 133-148 [PMID: 13084954]
- 5 Healey JE. Clinical anatomic aspects of radical hepatic surgery. *J Int Coll Surg* 1954; 22: 542-550 [PMID: 13212155]
- 6 Healey JE, Schroy PC. Anatomy of the biliary ducts within the human liver; analysis of the prevailing pattern of branchings and the major varia-

- tions of the biliary ducts. *AMA Arch Surg* 1953; 66: 599-616 [PMID: 13039731 DOI: 10.1001/arch-surg.1953.01260030616008]
- 7 Couinaud C. [Intrahepatic anatomy. Application to liver transplantation]. *Ann Radiol (Paris)* 1994; 37: 323-333 [PMID: 7993018]
 - 8 Bismuth H. Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J Surg* 1982; 6: 3-9 [PMID: 7090393 DOI: 10.1007/BF01656368]
 - 9 Strasberg SM, Phillips C. Use and dissemination of the brisbane 2000 nomenclature of liver anatomy and resections. *Ann Surg* 2013; 257: 377-382 [PMID: 22895397 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31825a01f6]
 - 10 中国肝脏专家组. 肝脏解剖和肝脏手术切除术统一名称. *中华外科杂志* 2002; 40: 22-24
 - 11 Hjortsjo CH. The topography of the intrahepatic duct systems. *Acta Anat (Basel)* 1951; 11: 599-615 [PMID: 14829155 DOI: 10.1159/000140534]
 - 12 Elias H, Petty D. Gross anatomy of the blood vessels and ducts within the human liver. *Am J Anat* 1952; 90: 59-111 [PMID: 14902689 DOI: 10.1002/aja.1000900104]
 - 13 Goldsmith NA, Woodburne RT. The surgical anatomy pertaining to liver resection. *Surg Gynecol Obstet* 1957; 105: 310-318 [PMID: 13467662]
 - 14 Couinaud C. [Study of the intrahepatic portal vein]. *Presse Med* 1953; 61: 1434-1438 [PMID: 13120752]
 - 15 Couinaud C. Intrahepatic distribution of hepatic artery. *Acta Anat (Basel)* 1954; 22: 49-81 [DOI: 10.1159/000140947]
 - 16 Couinaud C. [Studies on intrahepatic bile ducts]. *J Chir (Paris)* 1954; 70: 310-328 [PMID: 13183966]
 - 17 Couinaud C. Surgical Anatomy of the Liver Revisited. Paris: Acheve D, imprimer Sur Les Presses, 1989: 130-132
 - 18 Couinaud C. The paracaval segments of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1994; 2: 145-151 [DOI: 10.1007/BF01222238]
 - 19 吴孟超, 张晓华, 陈汉. 肝癌与肝病—中国人民解放军肝胆外科研究所论文集. 北京: 人民军医出版社, 1991: 71-79
 - 20 Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Subsegmentation of the human liver. *J Anat* 1977; 124: 413-423 [PMID: 591437]
 - 21 Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Intrahepatic branching patterns of portal vein. A study by corrosion cast. *Gastroenterology* 1977; 72: 621-624 [PMID: 838215]
 - 22 Baykov AA, Alexandrov AP, Smirnova IN. A two-step mechanism of fluoride inhibition of rat liver inorganic pyrophosphatase. *Arch Biochem Biophys* 1992; 294: 238-243 [PMID: 1312806 DOI: 10.1016/0003-9861(92)90163-Q]
 - 23 Gupta CD, Gupta SC. Evaluation of intrahepatic arterial branching patterns in corrosion casts. *J Anat* 1976; 122: 31-41 [PMID: 977481]
 - 24 Takasaki K. Glissonean pedicle transection method for hepatic resection: a new concept of liver segmentation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1998; 5: 286-291 [PMID: 9880776 DOI: 10.1007/s005340050047]
 - 25 Takasaki K. [Hepatic resection using glissonean pedicle transection]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 1998; 99: 245-250 [PMID: 9642694]
 - 26 Cho A, Okazumi S, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Toma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Relation between hepatic and portal veins in the right paramedian sector: proposal for anatomical reclassification of the liver. *World J Surg* 2004; 28: 8-12 [PMID: 14648049 DOI: 10.1007/s00268-003-7038-0]
 - 27 Cho A, Asano T, Yamamoto H, Nagata M, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Mori M, Narumoto S, Okazumi S, Makino H, Ochiai T, Ryu M. Relationship between right portal and biliary systems based on reclassification of the liver. *Am J Surg* 2007; 193: 1-4 [PMID: 17188078 DOI: 10.1016/j.jamsurg.2006.10.007]
 - 28 Cho A, Okazumi S, Makino H, Miura F, Shuto K, Mochiduki R, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Gunji H, Yamamoto H, Ryu M, Ochiai T. Anterior fissure of the right liver—the third door of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11: 390-396 [PMID: 15619014 DOI: 10.1007/s00534-004-0919-2]
 - 29 Fasel JH, Majno PE, Peitgen HO. Liver segments: an anatomical rationale for explaining inconsistencies with Couinaud's eight-segment concept. *Surg Radiol Anat* 2010; 32: 761-765 [PMID: 20111966 DOI: 10.1007/s00276-010-0626-4]
 - 30 Allen WE. Terminologia anatomica: international anatomical terminology and Terminologia Histologica: International Terms for Human Cytology and Histology. *J Anat* 2009 May 28. [Epub ahead of print] [PMID: 19486203]
 - 31 Pang YY. The Brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB* 2000; 4: 333-339. author reply 99-100
 - 32 Pang YY. The Brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB (Oxford)* 2002; 4: 333-339; author reply 99-100 [PMID: 18332933]
 - 33 Ishibashi Y, Sato TJ, Hirai I, Murakami G, Hata F, Hirata K. Ramification pattern and topographical relationship between the portal and hepatic veins in the left anatomical lobe of the human liver. *Okajimas Folia Anat Jpn* 2001; 78: 75-82 [PMID: 11732208]
 - 34 Couinaud C. Liver anatomy: portal (and suprahepatic) or biliary segmentation. *Dig Surg* 1999; 16: 459-467 [PMID: 10805544 DOI: 10.1159/000018770]
 - 35 Onishi H, Kawarada Y, Das BC, Nakano K, Gadziyev EM, Ravnik D, Isaji S. Surgical anatomy of the medial segment (S4) of the liver with special reference to bile ducts and vessels. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 143-150 [PMID: 10690598]
 - 36 Kawarada Y, Das BC, Onishi H, Taoka H, Gadziyev EM, Ravnik D, Tabata M, Isaji S. Surgical anatomy of the bile duct branches of the medial segment (B4) of the liver in relation to hilar carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000; 7: 480-485 [PMID: 11180874 DOI: 10.1007/s005340070018]
 - 37 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Limited resection based on reclassification of segment 8 of the liver. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 575-576 [PMID: 15086205]
 - 38 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Chiba S, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Limited resection of the right hemiliver based on reclassification of the right anterior segment of the liver. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 820-821 [PMID: 15143924]
 - 39 Cho A, Okazumi S, Takayama W, Takeda A, Iwasaki K, Sasagawa S, Natsume T, Kono T, Kondo S, Ochiai T, Ryu M. Anatomy of the right anterosuperior area (segment 8) of the liver: evaluation with helical CT during arterial portography. *Radiology* 2000; 214: 491-495 [PMID: 10671598]

- 40 Kogure K, Kuwano H, Fujimaki N, Ishikawa H, Takada K. Reproposal for Hjortsjo's segmental anatomy on the anterior segment in human liver. *Arch Surg* 2002; 137: 1118-1124 [PMID: 12361415 DOI: 10.1001/archsurg.137.10.1118]
- 41 赵振美, 刘树伟, 林祥涛, 刘学静, 李振平, 汤煜春, 马刚, 娄丽. 国人肝段的再认识. *解剖学杂志* 2008; 31: 400-403
- 42 谢于, 蔡守望, 董家鸿, 周丁华, 周宁新. 基于肝内肝门静脉解剖的肝脏右前叶分段新概念. *中国临床解剖学杂志* 2010; 28: 651-654
- 43 Takayasu K, Moriyama N, Muramatsu Y, Shima Y, Goto H, Yamada T. Intrahepatic portal vein branches studied by percutaneous transhepatic portography. *Radiology* 1985; 154: 31-36 [PMID: 3964948]
- 44 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Proposal for a reclassification of liver based anatomy on portal ramifications. *Am J Surg* 2005; 189: 195-199 [PMID: 15720989 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2004.04.014]
- 45 Filipponi F, Romagnoli P, Mosca F, Couinaud C. The dorsal sector of human liver: embryological, anatomical and clinical relevance. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1726-1731 [PMID: 11149043]
- 46 刘允怡, 迟田毅. 肝脏IX段. *中华外科杂志* 2002; 40: 25-26
- 47 Takayama T, Tanaka T, Higaki T, Katou K, Teshima Y, Makuuchi M. High dorsal resection of the liver. *J Am Coll Surg* 1994; 179: 72-75 [PMID: 8019729]
- 48 沈柏用, 施源. 肝脏分段解剖的新认识. *世界华人消化杂志* 2008; 18: 913-918
- 49 Yamamoto M, Katagiri S, Ariizumi S, Kotera Y, Takahashi Y. Glissonean pedicle transection method for liver surgery (with video). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 3-8 [PMID: 21938411 DOI: 10.1007/s00534-011-0443-0]
- 50 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除—21世纪肝脏外科新理念. *中华外科杂志* 2009; 47: 1601-1605
- 51 Yin DL, Jiang HC, Liang YJ, Meng XZ, Wang JB, Zheng TS, Liu LX. Precise hepatectomy guided by minimally invasive surgery: a novel strategy for liver resection. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1951-1959 [PMID: 22819915]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展

舒祥兵, 宋海燕, 季光

舒祥兵, 宋海燕, 季光, 上海中医药大学脾胃病研究所 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032
舒祥兵, 在读硕士, 主要从事非酒精性脂肪肝的机制与临床研究。上海市教委重点学科建设项目基金资助项目, Nos. J50305, E03008, 2012JW35
高等学校博士学科点专项科研基金新教师类基金资助项目, No. 20113107120002
作者贡献分布: 本文综述由舒祥兵完成; 宋海燕与季光审校。
通讯作者: 季光, 教授, 主任医师, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学脾胃病研究所. jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261
收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-09
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease

Xiang-Bing Shu, Hai-Yan Song, Guang Ji

Xiang-Bing Shu, Hai-Yan Song, Guang Ji, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Supported by: the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, Nos. J50305, E03008, and 2012JW35; the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20113107120002

Correspondence to: Guang Ji, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com
Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-09
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is closely related to oxidative stress. Vitamin E (VE) is an effective antioxidant, which can relieve NAFLD symptoms by improving the balance between oxidation and anti-oxidation. However, recent research indicates that the mechanism of action of VE is not only limited to anti-oxidation, but also involves adjusting glucose and lipid metabolism disorders. Currently, the efficacy of VE in the treatment of NAFLD remains controversial, and its indications, dosage and treatment duration remain to be optimized. In this paper we review recent progress of clinical application of VE in the treatment of NAFLD and discuss the underlying mechanism.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vitamin E; Nonalcoholic fatty liver disease; Oxidative stress; Glucose and lipid metabolism

Shu XB, Song HY, Ji G. Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2787-2791 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2787.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2787>

摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病与氧化应激密切相关。维生素E(vitamine E, VE)是一种有效的抗氧化剂, 能够通过改善氧化平衡缓解NAFLD症状, 新近研究表明其发挥作用的机制并不局限于此, 还包括对糖、脂质等代谢紊乱的调节。然而迄今在NAFLD治疗中, VE的应用疗效仍然存在争议, 临床适用病情、药物剂量、疗程等尚待探讨。本文就VE治疗NAFLD的临床应用及机制的近期研究进展做一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维生素E; 非酒精性脂肪性肝病; 氧化应激; 糖脂代谢

核心提示: 维生素E在改善氧化应激、糖脂代谢、铁代谢等方面起重要作用, 维生素E单独或与其他药物联合使用可能是治疗非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)的有效策略之一。

舒祥兵, 宋海燕, 季光. 维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(27): 2787-2791
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2787.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2787>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的、以弥漫性肝细胞大泡性脂

■背景资料

随着生活水平的提高和生活方式的改变, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率不断上升, 已经成为21世纪全球重要的公共健康问题之一。维生素E(vitamine E, VE)有可能在NAFLD的治疗中发挥重要作用。

■同行评议者

方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部

■ 研发前沿

目前国际上尚缺乏对NAFLD稳定有效的治疗方案, 本文通过综述VE在NAFLD中的疗效及相关机制, 以期探讨VE是否能够成为治疗NAFLD的安全有效的药物。

脂肪变为主要病理表现的临床综合征^[1], 是代谢综合征在肝脏中的体现。随着肥胖和代谢综合征在全球的流行, 近20年亚洲国家NAFLD发病率增长迅速, 且呈低龄化发病趋势, 中国的上海、广州和香港等发达地区成人NAFLD患病率达15%左右^[2]。NAFLD已成为转氨酶异常的最常见的慢性肝病, 伴有炎症、肝细胞气球样变的进展为非酒精性脂肪型肝炎(non-alcoholic steatotic hepatitis, NASH), 部分NASH患者可进一步恶化为肝纤维化、肝硬化、肝癌等晚期肝病, 因此有必要积极防治NAFLD。普遍被认可的“二次打击”学说认为, 胰岛素抵抗和氧化应激是NAFLD的主要发病机制, 脂溶性维生素E(vitamine E, VE)作为一种有效的自由基清除剂, 成为NAFLD治疗药物之一, 但其临床长期应用效果不一, 并且其治疗NAFLD的机制还包括其他非抗氧化活性。因此, 本文整理VE对NAFLD的作用及其相关机制的相关报道, 以作为对VE在临床中应用的指导依据。

1 VE在NAFLD中的应用

1.1 VE的临床疗效 目前对于NAFLD的治疗还没有确切有效的方法, 由于氧化应激在NAFLD的发生和发展中起着核心的作用, 因此减少患者体内的氧应激水平不失为一种有效的策略。不过VE的早期临床研究出现了相互矛盾的结果。Hasegawa等^[3]评估了22例经肝活检证实为NASH的患者, 经过1年的VE(300 mg/d)治疗后, 肝脏组织学得到显著改善。Lavine等^[4]用VE(400-1200 IU/d)治疗肥胖的NASH儿童患者, 4-10 mo后, 血清转氨酶水平显著降低。Hoofnagle等^[5]也证实VE能够改善NASH患者的肝脏组织学和降低血清转氨酶水平, 不管是否伴随着体质量的下降。但Kugelmas等^[6]用VE(800 IU/d)治疗16例经活检证实为NASH患者12 wk后, 不能够证明VE有任何疗效。在最近两个大型的多中心随机对照试验中^[7], 对247例不伴有糖尿病的NASH成年患者, 随机接受吡格列酮(30 mg/d)、维生素E(800 IU/d)或安慰剂治疗96 wk后, 与安慰剂相比, VE明显改善NASH, 减少了肝细胞脂肪变性、小叶内炎症和肝细胞气球样变性, 而吡格列酮虽有趋势但没有统计学差异。但是两个治疗组都没有明显改善患者的肝纤维化水平^[8]。不过在一个小型的VE联合吡格列酮治疗的试验研究中发现, 联合治疗明显优于单独VE治疗, 不仅显著缓解脂肪变性和炎症, 也减轻了

组织纤维化水平^[9]。而在随后进行的另一项大型研究中, 173例NAFLD儿童随机接受VE(400 IU, 2次/d)、二甲双胍(500 mg, 2次/d)或安慰剂治疗96 wk后, 并没有显著减轻脂肪变性和炎症^[10]。同样, 这两项试验均未改善纤维化水平。上述结果表明至少在NAFLD的早期阶段, VE单药治疗能够提高肝功能和改善肝组织的某些病理变化。由于NAFLD的多因素发病, 药物组合可能是更合适的治疗策略^[11]。有研究表明VE(400 IU/d)和吡格列酮的组合在改善肝脏组织学方面明显优于单独使用VE^[9]。Pietu等^[12]研究也发现VE(500 IU/d)联合熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗NASH, 4年后能够有效改善肝功能, 同时约有33%左右患者的肝组织学明显改善。最近的研究也表明VE(600 mg/d)联合生活干预6 mo后, 与单纯生活方式干预相比, 能够有效降低氧化应激水平和改善有氧代谢, 从而改善肥胖的NAFLD儿童的肝功能、糖脂代谢和胰岛素抵抗^[13]。

1.2 VE的用药原则 美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南指出VE(800 IU/d)对肝活组织检查证实的NASH以及可疑NASH儿童的肝组织学损害有改善作用。VE(800 IU/d)能改善无糖尿病的成年NASH患者的肝组织学损伤, 因此, VE可作为成年无糖尿病的NASH患者的首选用药。不推荐VE用于治疗合并糖尿病的NASH、没有肝活组织检查资料的NAFLD、NASH肝硬化或隐源性肝硬化。因其疗效仍待考证, 暂不推荐用于儿童NASH的常规治疗^[14,15]。

1.3 VE的用药安全 Miller等^[16]的一项荟萃分析指出补充高剂量的VE可能增加全因死亡率, 然而一项大型的随机对照试验, 对使用者平均随访8年结果显示VE(400 IU, 隔日)对总死亡率没有显著影响, 但会增加出血性中风的风险^[17,18]。此外, 另一项近期的随机对照试验表明, 男性补充VE(400 IU/d)会增加前列腺癌的风险^[19], 所以对VE的用药安全仍需引起注意。同时对大鼠研究也表明, 大量VE(10000 mg/kg)反而会导致机体抗氧化酶活性的下降^[20]。Hajiani等^[21]对小鼠实验也发现, 饲料添加VE(600 mg/kg)饲养6 wk, 可降低抗氧化酶的活性, 诱导肝脏出现脂质过氧化。说明VE的剂量过高, 可能会对机体产生不利的影响。

2 VE防治NAFLD的机制

2.1 维生素E和氧化应激脂质过氧化的关系 在

NAFLD发病过程中, 肝内大量活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生造成线粒体功能的损害和抗氧化系统的消耗, 引起氧应激, 直接导致肝细胞膜脂质过氧化使细胞受到损伤, 或通过增加细胞因子表达引起肝细胞凋亡或坏死、炎性浸润、星状细胞活化等病理改变^[22]. VE能与自由基反应以清除ROS, 使脂质过氧化链中断. 在自由基进攻的早期, VE通过消除细胞膜中产生的自由基, 保护细胞膜中的高不饱和脂肪酸, 阻断其氧化过程, 从而抑制膜磷脂形成脂质过氧化. 通过抑制磷脂过氧化^[23,24], VE能够提高线粒体的膜电位, 改善线粒体的功能, 从而抑制线粒体ROS的产生^[25]. 同时VE还能降低小鼠的丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平, 同时降低机体脂质及蛋白质损伤程度, 升高谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 提高机体的抗氧化能力^[26]. 核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是重要的对氧化应激敏感的核转录因子, 过多ROS的堆积使NF- κ B激活, 而上调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白介素(interleukin, IL-6)等炎症因子表达, 反过来增加ROS的生成, VE能通过调控氧应激和炎症信号降低这些细胞因子的表达, 改善肝脏炎症和纤维化反应^[27].

2.2 VE和脂代谢的关系 脂质在肝脏异常异位蓄积是NAFLD发生的主要原因. 在对哺乳动物的研究中发现VE通过抑制甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMG-CoAR)的表达, 降低胆固醇的堆积^[28]. 此外, Burdeos等^[29]在HepG2细胞和F344大鼠中发现, VE通过下调脂肪酸合成酶的表达、升高脂肪酸 β 氧化相关基因(细胞色素氧化酶P450 3A4和肉毒碱棕榈酰转移酶)的表达降低甘油三酯, 而对胆固醇则没有明显的改变, 表明VE在降低胆固醇方面的作用还存在争议. 同时临床研究也表明, VE能够降低高胆固醇血症患者的血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白B和甘油三酯的水平, 改善脂代谢^[30]. 3T3-L1前脂肪细胞在诱导剂诱导下能够分化为成熟的脂肪细胞, 有研究表明, VE可通过抑制磷酸酯酶A2的活性从而抑制前列腺素的产生和Akt磷酸化来降低胰岛素诱导的3T3-L1细胞分化, 降低小鼠体质量^[31,32].

2.3 VE和糖代谢的关系 近年来研究发现, 氧化应激对糖代谢有一定影响, 同时升高的葡萄糖

也可以促进线粒体ROS的产生, 引起细胞内氧化应激反应^[33]. 流行病学研究显示低血浆VE的男性患糖尿病的风险相比对照组增加4倍^[34]. 而VE通过其抗氧化能力可增强肝细胞功能, 改善胰岛素抵抗^[35,36]. 同时VE也能够清除氧自由基, 降低caspase3的活性, 保护STZ诱导的胰岛 β 细胞损伤^[37]. 同时有研究发现, VE可以有效降低糖尿病大鼠的血糖和糖化血红蛋白, 同时在(600-900 mg/kg)范围内可能存在剂量反应关系^[38]. 脂联素能够刺激AMP-活化蛋白激酶, 增加骨骼肌中脂肪酸的氧化和葡萄糖转运, 同时抑制肝脏中脂肪的生成. VE通过激活PPAR及其内源性受体上调脂联素的表达^[39,40], 从而上调GLUT4的表达, 改善大鼠对葡萄糖的利用, 并提高胰岛素的敏感性^[41,42]. 有研究也发现VE能够独立于胰岛素信号而通过增加肌肉中AMPK和脂肪酸氧化酶的表达而改善DEX诱导的糖尿病大鼠的糖耐量^[43].

2.4 维生素E和铁代谢的关系 铁代谢失常和NAFLD的关系还存在争议. 美国对经活检证实的NAFLD患者的大型研究表明, 1/3的患者存在铁代谢异常^[44]. 相关研究也发现, NAFLD患者的转铁蛋白受体1(TfR1)、转铁蛋白受体2(TfR2)、铁调素(hepcidin)、血清铁和铁蛋白都明显升高^[45,46], 铁超载的NAFLD患者的氧化应激的标志物血清硫氧还蛋白也显著升高, 表明铁超载能够通过Fenton反应催化ROS引起氧应激^[47], 提示铁代谢失常是NAFLD发生发展的因素之一. Chalasani等^[48]发现VE能够改善铁诱导的大鼠肝脏脂质过氧化和肝细胞损伤, 防止肝纤维化的发生. 同时VE能减轻铁诱导的毒性反应^[49], 降低大鼠肝组织的不稳定铁离子^[50], 增强肝细胞活力^[51]. 李敏等^[52]也报导VE还能够降低高糖培养下L02细胞活性氧的含量, 降低IRP1、TfR1、TfR2蛋白表达和铁调素的水平, 改善铁介导的氧应激和糖脂代谢紊乱, 逆转肝细胞损伤.

3 结论

VE在改善肝脏氧应激、脂质过氧化、糖脂代谢、铁代谢方面发挥重要作用. 在治疗NAFLD中发挥重要作用, 但其临床应用仍需考虑病情进展等因素来决定其应用与否和使用的剂量.

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组.

■ 相关报道

据报道VE在改善氧应激和糖脂代谢等方面具有作用, 但其在NAFLD中的应用疗效方面研究结果不一.

■创新盘点

本文总结了近几年有关维生素E对NAFLD的疗效及相关机制的研究报道,同时综合阐述了维生素E的用药原则、不良反应等,为VE治疗NAFLD合理使用提供依据和指导。

- 2 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
- 3 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 现代医药卫生 2011; 27: 641-643
- 4 Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1667-1672 [PMID: 11564008]
- 5 Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. *J Pediatr* 2000; 136: 734-738 [PMID: 10839868]
- 6 Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley KV, Loomba R, Neuschwander-Tetri BA, Sanyal AJ, Tonascia J. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 134-143 [PMID: 23718573 DOI: 10.1111/apt.12352]
- 7 Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology* 2003; 38: 413-419 [PMID: 12883485]
- 8 Pacana T, Sanyal AJ. Vitamin E and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 641-648 [PMID: 23075940 DOI: 10.1097/MCO.0b013e328357f747]
- 9 Armstrong MJ, Houlihan DD, Rowe IA. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 1185; author reply 1186 [PMID: 20843257 DOI: 10.1056/NEJMc1006581]
- 10 Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, Stravitz RT, Shiffman ML, Clore J, Mills AS. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1107-1115 [PMID: 15625656]
- 11 Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Mollleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Abrams SH, Scheimann AO, Sanyal AJ, Chalasani N, Tonascia J, Ünalp A, Clark JM, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA* 2011; 305: 1659-1668 [PMID: 21521847 DOI: 10.1001/jama.2011.520]
- 12 Adinolfi LE, Restivo L. Does vitamin E cure non-alcoholic steatohepatitis? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 147-150 [PMID: 21476908 DOI: 10.1586/egh.11.27]
- 13 Pietu F, Guillaud O, Walter T, Vallin M, Hervieu V, Scoazec JY, Dumortier J. Ursodeoxycholic acid with vitamin E in patients with nonalcoholic steatohepatitis: long-term results. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 146-155 [PMID: 22154224 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.011]
- 14 D'Adamo E, Marcovecchio ML, Giannini C, de Giorgis T, Chiavaroli V, Chiarelli F, Mohn A. Improved oxidative stress and cardio-metabolic status in obese prepubertal children with liver steatosis treated with lifestyle combined with Vitamin E. *Free Radic Res* 2013; 47: 146-153 [PMID: 23205728 DOI: 10.3109/10715762.2012.755262]
- 15 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012; 142: 1592-1609 [PMID: 22656328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.001]
- 16 范建高, 沈峰, 丁晓东. 美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南简介. 中华肝脏病杂志 2012; 26: 430-431
- 17 Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005; 142: 37-46 [PMID: 15537682]
- 18 Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, Bubes V, Manson JE, Glynn RJ, Gaziano JM. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 300: 2123-2133 [PMID: 18997197 DOI: 10.1001/jama.2008.600]
- 19 Schürks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2010; 341: c5702 [PMID: 21051774 DOI: 10.1136/bmj.c5702]
- 20 Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, Minasian LM, Ford LG, Parnes HL, Gaziano JM, Karp DD, Lieber MM, Walther PJ, Klotz L, Parsons JK, Chin JL, Darke AK, Lippman SM, Goodman GE, Meyskens FL, Baker LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011; 306: 1549-1556 [PMID: 21990298 DOI: 10.1001/jama.2011.1437]
- 21 Eder K, Flader D, Hirsch F, Brandsch C. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *J Nutr* 2002; 132: 3400-3404 [PMID: 12421858]
- 22 Hajiani M, Golestani A, Sharifabrizi A, Rastegar R, Payabvash S, Salmasi AH, Dehpour AR, Pasalar P. Dose-dependent modulation of systemic lipid peroxidation and activity of anti-oxidant enzymes by vitamin E in the rat. *Redox Rep* 2008; 13: 60-66 [PMID: 18339248 DOI: 10.1179/135100008X259114]
- 23 李艳丽, 顾兴平, 张丽. 非酒精性脂肪肝研究进展. 实用中医药杂志 2012; 28: 880-881
- 24 张智峰, 朱英, 周园芳. 维生素E辅助治疗成年人非酒精性脂肪性肝病的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2010; 18: 424-426
- 25 Kleszczewska E. [Biological role of reactions of L-ascorbic acid with metals]. *Postepy Hig Med Dosw* 2001; 55: 81-94 [PMID: 11355536]
- 26 Nowak G, Bakajsova D, Hayes C, Hauer-Jensen M, Compadre CM. γ-Tocotrienol protects against mitochondrial dysfunction and renal cell death. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 340: 330-338 [PMID: 22040679 DOI: 10.1124/jpet.111.186882]
- 27 Kinalski M, Sledziewski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I. Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 2000; 37: 179-183 [PMID: 11450500]
- 28 Kuhad A, Chopra K. Attenuation of diabetic nephropathy by tocotrienol: involvement of NFκB signaling pathway. *Life Sci* 2009; 84: 296-301 [PMID: 19162042 DOI: 10.1016/j.lfs.2008.12.014]
- 29 Parker RA, Pearce BC, Clark RW, Gordon DA,

- Wright JJ. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1993; 268: 11230-11238 [PMID: 8388388]
- 29 Burdeos GC, Nakagawa K, Kimura F, Miyazawa T. Tocotrienol attenuates triglyceride accumulation in HepG2 cells and F344 rats. *Lipids* 2012; 47: 471-481 [PMID: 22367056 DOI: 10.1007/s11745-012-3659-0]
- 30 Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* 2002; 161: 199-207 [PMID: 11882333]
- 31 Uto-Kondo H, Ohmori R, Kiyose C, Kishimoto Y, Saito H, Igarashi O, Kondo K. Tocotrienol suppresses adipocyte differentiation and Akt phosphorylation in 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr* 2009; 139: 51-57 [PMID: 19056650 DOI: 10.3945/jn.108.096131]
- 32 郑奕迎, 刘声远, 马兰, 龙儒桃. 维生素E抑制3T3-L1前脂肪细胞的分化. 海南医学院学报 2010; 16: 1117-1119
- 33 毛晓明, 刘志民, 石勇栓, 蒋克春, 王爱萍, 饶亚平. 维生素E与维生素C联合治疗对糖耐量受损患者糖代谢的影响. 中华糖尿病杂志 2004; 12: 413-416
- 34 Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, Mäenpää PH, Korpela H, Kaplan GA, Lynch J, Helmrach SP, Salonen R. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ* 1995; 311: 1124-1127 [PMID: 7580706]
- 35 Vinayaga Moorthi R, Bobby Z, Selvaraj N, Sridhar MG. Vitamin E protects the insulin sensitivity and redox balance in rat L6 muscle cells exposed to oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2006; 367: 132-136 [PMID: 16458280]
- 36 Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR, Berry EA. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care* 2004; 27: 2166-2171 [PMID: 15333479]
- 37 王仁忠, 贾雪丽, 张能, 吕立生, 余华荣. 维生素E抗胰岛细胞损伤的相关机制研究. 西南国防医药 2009; 19: 45-46
- 38 鲁丽君, 李莉. 不同剂量维生素E对糖尿病大鼠血糖的影响. 临床医药实践 2011; 20: 46-47
- 39 Shen XH, Tang QY, Huang J, Cai W. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 47-51 [PMID: 20404018 DOI: 10.1258/ebm.2009.009122]
- 40 Gray B, Swick J, Ronnenberg AG. Vitamin E and adiponectin: proposed mechanism for vitamin E-induced improvement in insulin sensitivity. *Nutr Rev* 2011; 69: 155-161 [PMID: 21348879 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00377.x]
- 41 Tzanetakou IP, Doulamis IP, Korou LM, Agrogianis G, Vlachos IS, Pantopoulou A, Mikhailidis DP, Patsouris E, Vlachos I, Perrea DN. Water Soluble Vitamin E Administration in Wistar Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Open Cardiovasc Med J* 2012; 6: 88-97 [PMID: 22930662 DOI: 10.2174/1874192401206010088]
- 42 Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 212-217 [PMID: 10878750]
- 43 Williams DB, Wan Z, Frier BC, Bell RC, Field CJ, Wright DC. Dietary supplementation with vitamin E and C attenuates dexamethasone-induced glucose intolerance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302: R49-R58 [PMID: 22031784 DOI: 10.1152/ajpregu.00304.2011]
- 44 Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh MM, Kleiner DE, Unalp-Arida A, Kowdley KV. Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 448-457 [PMID: 21274866 DOI: 10.1002/hep.24038]
- 45 Mitsuyoshi H, Yasui K, Harano Y, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2009; 39: 366-373 [PMID: 19054139 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00464.x]
- 46 李水淼, 黄子成, 王木成. 非酒精性脂肪肝患者血清铁、转铁蛋白、血清铁蛋白水平测定. 上海医药 2006; 27: 517-518
- 47 Nelson JE, Klintworth H, Kowdley KV. Iron metabolism in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 8-16 [PMID: 22124850 DOI: 10.1007/s11894-011-0234-4]
- 48 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 811-826 [PMID: 22641309 DOI: 10.1038/ajg.2012.128]
- 49 Omara FO, Blakley BR. Vitamin E is protective against iron toxicity and iron-induced hepatic vitamin E depletion in mice. *J Nutr* 1993; 123: 1649-1655 [PMID: 8410355]
- 50 Ibrahim W, Chow CK. Dietary vitamin E reduces labile iron in rat tissues. *J Biochem Mol Toxicol* 2005; 19: 298-303 [PMID: 16292753]
- 51 Milchak LM, Douglas Bricker J. The effects of glutathione and vitamin E on iron toxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett* 2002; 126: 169-177 [PMID: 11814705]
- 52 李敏, 乔燕. 维生素E对不同糖浓度培养L02细胞铁代谢相关蛋白表达的影响. 山西医科大学学报 2012; 43: 494-497

■同行评价

本文对VE能否成为NAFLD的辅助治疗及预防制剂有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



微生态制剂与炎症性肠病

张峰睿, 缪应雷

■背景资料

微生态制剂(益生菌、益生元)在炎症性肠病的治疗中已经取得了临床医师的认可,虽国内外有大量基础及临床研究,但其作用机制、临床药物剂型的选择、用量等问题尚无统一标准,对微生态制剂的合理运用造成了困难,本文选取大量国内外相关研究,并提出微生态制剂研究中的相关问题。

张峰睿, 缪应雷, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

张峰睿, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由张峰睿完成; 缪应雷审校。

通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西山区西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。myldu@sina.com
电话: 0871-65324888-2532

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-07-17

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease

Feng-Rui Zhang, Ying-Lei Miao

Feng-Rui Zhang, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 295 Xichang Road, Xishan District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-07-17

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), is a chronic non-specific inflammatory condition of the gastrointestinal tract with unknown etiology. During the exploration of the etiology, treatment and other aspects of IBD, it has been gradually realized that microbial ecological agents (MEAs) are helpful in the treatment of IBD. This article reviews the relationship between MEAs and IBD with regard to the intestinal environment in IBD, the therapeutic effect of MEA in IBD and the possible mechanisms involved.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Intestinal environment; Microbial ecological agents

Zhang FR, Miao YL. Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2792-2801 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2792.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2792>

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

摘要

炎症性肠病(inflammation bowel disease, IBD), 是一种病因不清的, 慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD). 在对IBD病因、治疗等方面的探索过程中, 人们逐渐开始重视微生态制剂(microbial ecological agent, MEA)对IBD的重要作用, 国内外大量研究提示微生态制剂对于IBD的治疗有所帮助. 本文总结了近年来MEA与IBD关系的研究进展, 就IBD肠道环境、MEA的治疗效果及作用机制等方面作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 肠道环境; 微生态制剂

核心提示: 微生态制剂在治疗炎症性肠病中的运用已经逐渐常规化, 国内外亦在探索其作用机制及临床效果, 但微生态制剂的确切作用机制以及临床使用中剂型、剂量、用药时间等相关问题仍无统一结论, 本文选取大量相关文献, 并提出亟待解决的问题, 为实验研究及临床运用提出了一定的建议与参考。

张峰睿, 缪应雷. 微生态制剂与炎症性肠病. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2792-2801 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2792.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2792>

0 引言

炎症性肠病(inflammation bowel disease, IBD)病因未明, 治疗主要依赖柳氮磺胺吡啶(salazosulfapyridine, SASP)制剂或氨基水杨酸制剂(5-amino salicylic acid, 5-ASA), 反应不佳或病情严重者可加用糖皮质激素或免疫抑制剂, 近年来, 众多有关微生态制剂(microbial ecological agent, MEA)在IBD治疗中的研究成果, 不断地阐释和验证了MEA在IBD治疗中的机制与疗效. 在临床工作中, 对MEA的运用也逐渐成为IBD治疗中的常规选择, 本文就MEA与IBD的基础研究及临床运用作一综述。

1 正常人肠道菌群

1.1 正常肠道菌群组成 正常人体消化系统中含近500余种细菌, 数量达 10^{14} 个左右, 主要由厌氧菌、需氧菌及兼性厌氧菌组成, 据报道^[1], 成人体内杆菌属及厚壁菌属常占据主导地位, 而放线菌、变形细菌虽常见, 但仅是次要组成部分, 在不同人群中, 虽然肠道菌群的主要成分保持一致性, 但肠道微生态的相对比例和种类, 仍存在显著差异. 不同种类细菌的分布与肠道位置息息相关, G⁺菌与需氧菌主要位于上段小肠, 而厌氧菌则密集于回盲部, 结肠中的厌氧菌数量则更多, 如双歧杆菌、乳酸菌、类杆菌等, 不同种类的细菌共存于肠道环境中, 共同参与并调节肠道微环境, 并维护肠道微生物生态系统的平衡.

1.2 正常肠道菌群分类 肠道菌群可根据来源分为常驻菌群与过路菌群, 常驻菌群是指一类长期定居于人体肠腔内, 并维持正常肠道功能的一组细菌. 过路菌群又称病原菌, 长期定植机会较少, 故正常情况下人体内该种菌群数量少, 不足以致病, 一旦肠道微环境破坏, 正常菌群优势消失, 病原菌群则可导致肠道疾病发生.

根据细菌作用分为生理菌、条件致病菌及病原菌, 生理菌为宿主所长期携带, 为肠道优势菌群, 对人体无害, 并且具有营养、生物拮抗、免疫等作用; 条件致病菌为非优势菌群, 在肠道环境平衡的情况下可与宿主共存, 特定条件下可致病, 主要包括肠球菌、大肠杆菌等; 病原菌多为过路菌, 当一定数量的该种细菌进入宿主后, 可导致疾病发生, 如变形杆菌、产气荚膜杆菌等.

2 IBD患者肠道菌群

2.1 UC患者肠道菌群的改变 多项国内外研究皆提示溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠道菌群与正常人肠道菌群存在差异, 无论处于活动期、缓解期, UC患者和健康对照者粪便细菌存在着显著的差异. Yukawa等^[2]提出, 在UC患者粪便中, 发现了增高的*varium*梭杆菌; Nemoto等^[3]选取48例临床诊断UC的患者, 利用终端-限制性片段长度多态性(terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)、实时荧光定量PCR(Real-time PCR)以及细胞培养, 结果提示UC患者肠道菌群多样性较健康人明显下降, 其中杆菌明显下降, 而肠球菌数量则较健康人升高, 同时发现UC患者粪便内有机酸含量下

降. Linskens等^[4]提出UC患者粪便中, 兼性厌氧菌含量升高, 乳杆菌、双歧杆菌等正常菌群数量下降. 崔海宏等^[5]采用梯度稀释, 进行肠道菌群分析, 发现UC急性期菌群中肠杆菌、肠球菌等致病菌数量明显上升, 而乳杆菌等正常菌群数量明显下降, 缓解期患者的拟杆菌级双歧杆菌较急性期明显上升, 且与对照组无明显差别. Kleessen等^[6]利用荧光原位杂交, 发现在83%的UC结肠黏膜标本中存在细菌对肠黏膜的侵袭, 但在对照组中并未发现.

2.2 CD患者肠道菌群的改变 Aomatsu等^[7]将UC、克罗恩病(Crohn's disease, CD)及健康人肠道菌群进行对比, 发现CD患者肠道菌群中梭状芽胞杆菌及*Faecalibacterium*属细菌含量均明显较UC患者及健康人降低, 杆菌属细菌同样较健康人明显下降, Shannon多样性指数提示CD患者的肠道细菌多样性较健康人下降. Ricanek等^[8]的团队利用rRNA分子探针技术对CD患者回肠及结肠病变部位黏膜的细菌分布情况, 结果提示CD患者杆菌较健康对照组明显下降(CD: 42%, 对照: 71%); 厚壁菌属上升(CD: 42%, 对照: 28%); 变形菌上升(CD: 15%, 对照: 0%). 国内Liu等^[9]选取了15例CD患者, 23例肠道结核患者以及21例健康志愿者, 分别对3组对象进行粪便细菌检测, 结果提示在CD患者中, 乳酸杆菌及双歧杆菌明显较健康志愿者下降, 但拟杆菌数量上升. Verma等^[10]将共计84例IBD患者(UC: 72例, CD: 12例)及65例健康对照者纳入实验, 经内镜取材后, 利用rRNA探针技术及RT-PCR技术分析肠黏膜细菌情况, 他们发现乳酸杆菌、瘤胃球菌属、双歧杆菌属在UC与CD患者均有明显下降. 梭状芽胞杆菌在CD患者中的变化不显著, 但在UC患者中明显增加; 革兰氏阳性球菌及消化链球菌属细菌在CD患者体内数量增加; 和健康对照者相比, CD患者及UC患者体内有明显增加的弯曲杆菌属细菌, 而其两者之间又存在显著差异, 且弯曲菌属数量随疾病的进展而变化, 当疾病进入缓解期时, 则弯曲菌属数量亦趋于恢复正常.

可见, IBD患者普遍存在肠道菌群失调, 以致病菌增加、正常菌群减少为其特点, 而肠道菌群失调将进一步导致肠屏障功能障碍, 从而促进IBD病情的发展, 故IBD患者肠道菌群的调整十分必要.

2.3 两种特殊细菌与IBD的关系 目前在关注IBD患者肠道菌群失调的同时, 亦不断提出一些肠

■研发前沿

微生态制剂在炎症性肠病中的研究热点集中于各类型益生菌及益生元在溃疡性结肠炎或克罗恩病治疗中的作用机制及临床效果, 虽有大量上述研究报道, 但针对微生态制剂作用机制以及其剂型、剂量、用药时间等临床问题的选择, 仍缺乏统一的共识, 亟待解决.

■创新盘点

本文不仅涉及益生菌在炎症性肠病治疗中的运用及机制研究,亦涉及国外对益生元及合生元运用的讨论,且提出了难辨梭状芽孢杆菌及普拉梭菌在炎症性肠病中的影响,在综合近年来国内外相关最新研究的同时,亦提出了微生物制剂在炎症性肠病治疗中尚存的相关问题。

道细菌在IBD病情发生、发展中的相关机制,其中以难辨梭状芽孢杆菌与普拉梭菌相关的研究较多。

2.3.1 难辨梭状芽孢杆菌: 难辨梭状芽孢杆菌(*clostridium difficile*, *Cd*)是一种较为常见的革兰氏阳性杆菌,在长期应用抗生素的情况下,其在肠道生长速度加快,可以造成抗生素相关性肠炎。而*Cd*在IBD中的重要性逐渐被人们重视,国外流行病学报道称IBD患者的*Cd*易感性高于普通人群^[11],IBD与*Cd*间的关联可能是由于多种因素的影响,包括可能改变肠道菌群并促进*Cd*定植的治疗药物、改变免疫与营养状态的药物以及频繁的住院^[12]。*Cd*对于肠黏膜的破坏有可能来自于其黏附于肠黏膜后引发的过度免疫反应^[13]。在很多的临床试验以及流行病学研究结果中,我们同样可以看到存在*Cd*感染的IBD患者,往往有更高的结肠切除率、死亡率等更差的预后^[14-17]。

*Cd*在致病过程当中释放毒素A、B,毒素A可以通过活化包括钙/钙调蛋白(Ca^{2+} /calmodulin)、钙调素蛋白激酶(calcium/calmodulin-dependent kinase)、酪氨酸蛋白激酶(presence of protein tyrosine kinase, PTK)、核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)以及激活蛋白-1在内的通路,从而使单核细胞分泌白介素-8(interleukin-8, IL-8)增加^[18]。对于毒素B而言,其在人体肠道内已经被证明可以诱导肠上皮细胞损伤、增加肠黏膜通透性、刺激IL-8的合成并引发以中性粒细胞募集为特征的急性炎症反应^[19]。毒素B可以通过活化表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)以及ERK-MAP激酶而增加IL-8的基因表达。总之,毒素A、B介导的炎症反应机制涉及到激活MAP激酶、NF- κB 、AP-1以及促进IL-8的合成释放。

在Navaneethan等^[20]的研究中,UC患者并*Cd*感染(*clostridium difficile* infection, CDI)的情况下,初次就诊的急诊室就诊率远高于无*Cd*感染的UC患者(37.8% vs 4.0%, $P<0.001$),CDI在一年后的结肠切除率率的比较中仍然远高于对照组(35.6% vs 9.9%, $P<0.001$);CDI患者在一年内有55.8%需要治疗上的升级,而对照组则仅有12.9%患者的治疗需要提升,从多个角度对比*Cd*感染与否,均提示*Cd*的感染是IBD发展、加重的潜在原因。国内刘晶晶等^[21]研究提示,IBD患者中存在一定的*Cd*感染率(UC: 16.7%, CD: 8.6%),特别是在IBD活动期,且随着IBD疾病严重程度

的上升,*Cd*感染率亦逐步逐步增高。

到目前为止,尚未有明确证据提示*Cd*的感染先于IBD的发生,然而*Cd*激活的炎症反应则有助于IBD的发展与加重。随着对*Cd*在IBD发生、发展中作用认识的深入,对IBD患者检测*Cd*感染已成为了决定治疗策略及判断患者预后的重要指标。

2.3.2 普拉梭菌: 普拉梭菌(*faecalibacterium prausnitzii*, *Fp*)属于厚壁菌属,在人体内可以代谢肠道未吸收的糖类并产生大量的丁酸,成为了肠道中主要产丁酸的细菌,而丁酸被广泛认为是肠黏膜上皮细胞的主要能量物质,对于维持肠黏膜屏障功能起到了重要作用^[22]。*Fp*在IBD患者体内减少,且经国内外研究证实,*Fp*具有抗炎特性,而*Fp*的减少有可能带来由细菌介导的黏膜抗炎活性的下降^[23]。

在Sokol等^[24]的研究中,22例活动期CD患者、10例缓解期CD患者、13例活动期UC患者、4例缓解期UC患者、8例感染性肠炎患者及27例健康对照者参与到实验当中,运用RT-PCR及16S rRNA探针技术测定各组患者粪便细菌并进行比较,*Fp*在活动期IBD及感染性肠炎患者中明显降低,同时他们提出*Fp*对于肠道微生物的稳定可能是至关重要的,而*Fp*的减少可能带来肠道黏膜保护能力的降低。

除了*Fp*分泌丁酸的机制外,关于*Fp*在IBD中抗炎机制的研究仍有很多提示。在Sokol等^[25]的研究中发现,*Fp*不仅仅能够产生丁酸供能,尚可调节肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-10、IL-12等多种细胞因子的合成与释放,调整肠道菌群的组成,从而达到对IBD的治疗效果。国内洪娜等^[26]的研究提示,*Fp*具有上调外周血和脾内的Foxp³⁺Treg水平,抑制促炎因子IL-17、IL-6分泌,重建Treg/Th17平衡等作用,从而达到降低局部炎症反应的作用。提示*Fp*在IBD治疗过程中参与免疫调节。

可见对于IBD而言,*Fp*具有全面的作用机制,包括维持和增强肠黏膜屏障功能、调节肠黏膜免疫反应、维持肠道微生态环境等方面,故*Fp*应该更加具有开发潜力。

3 微生物制剂

3.1 微生物制剂分类 MEA包括益生菌(probiotic)与益生元(prebiotic),益生菌(probiotics)是指活微生物,口服后影响并改变肠道微环境,最终起到

有益作用, Thompson-Chagoyan将其定义为: 人体自有的, 且对宿主自身无致病性, 可定植于肠道并于肠道内繁殖, 有抗菌作用, 可调节免疫, 并对宿主代谢活动产生影响的多种微生物^[27], 当前临床常用制剂包括双歧杆菌、乳酸杆菌、地衣芽孢杆菌等. 益生元是一种通过选择性的刺激一种或少数种菌落中的细菌的生长与活性而对寄主产生有益的影响从而改善寄主健康的不可被消化的食品成分, 可以将益生元理解为肠道益生菌的“食物”, 帮助益生菌的生长和繁殖. 主要包括菊粉、乳果糖等多种寡糖类物质. 合生元是益生菌与益生元的混合物, 既补充了益生菌, 同时也使用益生元促进了益生菌的生长与繁殖. 目前临床常用的微生态制剂包括金双歧、贝飞达、丽珠肠乐、整肠生等.

3.2 微生态制剂的药理作用机制

3.2.1 增强肠道屏障: Anderson等^[28]通过跨膜电阻检测(transsepithelial electrical resistance, TEER)发现, 益生菌可使TEER上升, 达到增强紧密连接, 提升肠道屏障功能的作用, 其中又以植物乳杆菌DSM2648效果最佳; MEA尚可与其他厌氧菌等形成生物学屏障, 从而阻止病原菌的入侵与定植^[29]. 尚有报道提出^[30], 布拉氏酵母菌能够通过活化 $\alpha 2\beta 1$ 整合胶原蛋白受体增强肠上皮自身修复能力, 加强肠道屏障功能. 可见, 通过增强肠黏膜上皮间的紧密连接、增强肠上皮自身修复能力、形成生物学屏障等途径, MEA可有效增强肠道屏障作用, 从而达到改善IBD患者肠道病变的目的.

3.2.2 免疫调节: Rajput等^[31]在动物实验中, 给予肉鸡益生菌, 后在肉鸡肠黏膜发现明显升高的肠道细胞因子; Dharmani等^[32]在临床实验中发现, VSL#3可以影响胃粘蛋白Muc-5ac的合成, 并调节细胞因子IL-10、环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)及多种生长因子的合成与分泌. 在Sokol等^[25]的试验中, 他们发现 Fp 能够在体外刺激单核细胞, 并使其与正常情况下相比分泌较多的IL-10以及更少的IL-12与干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ). 免疫因素的参与已被广泛认为与IBD的发生、发展密不可分, 对促炎因子的抑制、抗炎因子的促进均体现了MEA在IBD患者中的免疫调节作用.

3.2.3 抗肿瘤: Mano Horinaka等^[33]利用细胞培养技术, 发现乳杆菌属可以使肿瘤坏死因子相关凋亡配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)在人体外周血单核细胞

中产生增加, 并可以使自然杀伤细胞(nature killer cell, NK)活性升高, 从而增强机体抗肿瘤能力; 益生菌在结肠癌的预防中, 涉及多种信号传导通路以及细胞代谢途径的改变, 也被广泛认同^[34-36]. IBD潜在的癌变可能已被证实, 但MEA抗肿瘤作用在IBD治疗过程中的机制及临床效果均缺乏相关研究证据, 有待进一步研究.

3.2.4 营养作用: 肠道菌群能够合成人体多种营养物质, 如B族维生素(维生素B1、B2、B6、B12), 维生素K等, 还可合成非必需氨基酸, 如天冬氨酸、丙氨酸、缬氨酸和苏氨酸等, 并参与糖类和蛋白质的代谢, 同时还能促进铁、镁、锌等矿物元素的吸收. IBD患者常伴不同程度的营养不良, 而运用MEA维系肠道菌群, 将直接关系到上述多方面营养物质的合成或代谢.

4 微生态制剂在IBD治疗中的应用

4.1 微生态制剂治疗UC中的应用

4.1.1 临床试验: 在Tursi等^[37]的研究中, 他们选出总计144例确诊UC患者, 这些患者均为正在接受5-ASA或免疫抑制剂治疗, 在此基础上, 将他们随机分为两组, 治疗组71例, 安慰剂组73例, 其中, 给予治疗组患者益生菌制剂VSL#3(剂量为 3.6×10^{12} 细菌/d)治疗, 给予安慰剂组患者安慰剂, 结果在完成实验的共计131例患者(治疗组65例, 安慰剂组66例)中统计分析, 在服用VSL#3的治疗组中, 溃疡性结肠炎活动指数(ulcerative colitis activity index, UCDAI)的降低较安慰剂组明显(63.1 vs 40.8 ; PP: $P = 0.010$, 95%CI: $0.51-0.74$; ITT: $P = 0.031$, 95%CI: $0.47-0.69$); 治疗组缓解率亦高于安慰剂组(47.7% vs 32.4% ; PP: $P = 0.069$, 95%CI: $0.36-0.60$; ITT: $P = 0.132$, 95%CI: $0.33-0.56$). 在另一项研究中, Miele等^[38]将共计29例平均年龄9.8岁的明确诊断UC的患者随机分为治疗组与对照组, 治疗组给予常规IBD治疗及VSL#3(计量根据体重而定, $0.45 \times 10^{12}-1.8 \times 10^{12}$ 细菌/d), 安慰剂组给予安慰剂及常规IBD治疗, 并于治疗开始后1、2、6 mo及1年时评估患者病情活动情况, 得到结论: 治疗组中13例患者(92.8%)的症状得到缓解, 安慰剂组中4例患者(36.4%)的症状得到缓解($P < 0.001$); 在接下来的1年中, 治疗组中有3例患者(21.4%)复发, 安慰剂组中有11例患者(73.3%)复发($P = 0.014$, RR = 0.32 , 95%CI: $0.025-0.773$, NNT = 2), 其中3例治疗组患者及6例安慰剂组患者在6 mo内复发. 在Ishikawa等^[39]的实验中, 将41例临床诊断

■应用要点

本文通过总结国内外对微生态制剂在炎症性肠病中作用机制及临床运用的最新研究报道, 提示了其运用中的机制研究热点及有效的临床运用模式, 为相关实验研究的开展及临床工作提供了参考.

■同行评价

本文综述了微生态制剂与炎症性肠病的研究进展,有一定的临床参考价值。

UC的患者随机分为两组,治疗组给予合生元(益生菌:1 g/次,3次/d,每次剂量 1×10^9 细菌/g;5.5 g半乳糖寡糖)治疗,持续1年,对照组则仅给予基本UC治疗,不给予合生元。在试验开始前后分别使用肠镜指标、MPO定量及粪便细菌计数等方法判断疾病活动情况。结果经过1年合生元治疗,治疗组患者肠镜下改善较对照组明显,且MPO亦有明显下降,在粪便细菌中,治疗组粪便内类杆菌科细菌及粪便PH均较对照组下降。

4.1.2 Meta分析:在Sang等^[40]关于益生菌对UC诱导缓解及维持缓解疗效的系统评价中,他们利用计算机检索Cochrane、MEDLINE、EMBASE等数据库,经Meta分析后得出结论:益生菌联合标准方案对诱导和维持UC缓解的疗效明显优于空白对照治疗方案;在丁娟等^[41]关于益生菌制剂VSL#3对UC诱导缓解作用的系统评价中,他们同样利用计算机检索MEDLINE、EMBASE、Cochrane Library和中国生物医学文献数据、万方数据库,并系统评价了益生菌尤其是VSL#3诱导UC缓解的有效性和安全性,并最终得出结论:VSL#3对UC的诱导缓解作用优于对照组且安全性高。尚有多项^[42,43]关于微生态制剂治疗UC的Meta分析,均提出微生态制剂在UC诱导缓解及维持缓解中的明确作用。

在MEA治疗UC的临床实验以及Meta分析中可以发现,使用MEA联合常规治疗药物的联合用药模式,相对单纯使用常规IBD治疗药物而言,拥有更高的疾病缓解率及更低的复发率,MEA对于UC的治疗作用得到了临床应用的肯定。但国内外相关研究仅提示在常规治疗基础上联合运用益生菌或合生元治疗相比单用常规治疗更加有效,但均未涉及益生菌与合生元治疗效果的比较,即未明确益生元的治疗效果,亦未提出UC患者MEA治疗的剂型、剂量、运用时间等相关问题的用药原则,上述问题均有待进一步研究。

4.2 微生态制剂治疗CD中的应用

4.2.1 临床试验:Steed等^[44]及他的团队对35例临床诊断活动性CD的患者进行了一项随机、双盲以及空白对照的试验,给予治疗组合生元(其中包括双歧杆菌 2×10^{11} 细菌/g,2次/d),并分别于试验开始时、试验3、6 mo进行患者病情评估,包括临床表现、肠道活检、细胞因子等方面,结果提示:在克罗恩病活动指数方面(Crohn's disease activity index, CDAI),治疗组明显得到改善(起始: 219 ± 74.6 ; 结束: 147 ± 74 , $P = 0.020$),

而对照组则无明显改变(起始: 249 ± 79.4 ; 结束: 233 ± 155 , $P = 0.810$);在细胞因子方面,治疗组3 mo时TNF- α 已有明显下降,而对照组无明显改变。Garcia Vilela等^[45]将34例临床诊断CD的患者随机选出,并在基础治疗药物(美沙拉嗪、硫唑嘌呤、强的松等)治疗的情况下,给予啤酒酵母菌治疗,并在试验开始前以及给予布拉氏酵母菌(saccharomyces boulardii)治疗后第一个月及第3个月先后三次检测患者肠道通透性,同时选取15例健康志愿者作为空白对照。结果提示:试验开始前,健康志愿者肠道果糖/甘露醇为 0.005 ± 0.0037 ,CD患者为 0.021 ± 0.01 ,治疗3 mo后,CD患者该比值降低为 0.008 ± 0.006 ,提示肠道通透性得到改善,从而改善了肠道屏障功能。Fujimori等^[46]及团队随即选择10例未经手术治疗,且经过初期对氨基水杨酸及激素治疗未达缓解的CD患者,给予合生元(益生菌:双歧杆菌及乳酸杆菌 7.5×10^{10} CFU/d;益生元:欧车前9.9 g/d),整个实验过程中,药物的计量与用药持续时间均由患者自行调整,平均治疗时间为 $13.0 \text{ mo} \pm 4.5 \text{ mo}$,治疗结束后,CDAI及IOIBD两项评分均较治疗前明显下降(CDAI:治疗前255 vs 治疗后136, $P = 0.009$; IOIBD:治疗前3.5 vs 治疗后2.1, $P = 0.03$)。结果提示高剂量的益生菌与益生元合用可以有效而安全的治疗活动性CD。

4.2.2 Meta分析:Doherty等^[47]对术后CD复发与益生菌的使用进行了Meta分析,但结果提示在CD复发的危险性方面,益生菌的使用与安慰剂的使用结果没有明显差异,但仍值得进一步研究。同Doherty等相类似,Rahimi等^[48]与他的团队查询了PUMBED与Cochrane中心,对益生菌与防治CD维持缓解的关系进行了Meta分析,但结果类似,仍没有证明益生菌在CD维持缓解、预防复发方面的有效性,但建议使用含有乳酸菌与大肠杆菌或酵母的混合物。

在CD的治疗方面,MEA同样得到临床研究的认可,在临床实验中,通过MEA在增强肠黏膜屏障、调节免疫、改善肠道菌群等方面的作用,与治疗UC患者相比,CD患者同样在缓解率及复发率等方面取得了与常规治疗相比更好的水平,并且论证了MEA在治疗过程中的安全性,但Meta分析的结论无论在MEA治疗CD的有效性亦或是安全性方面,均没有支持上述临床研究结论,故MEA在CD治疗中的相关问题尚需进一步研究。同时,与MEA治疗UC存在的问题一致,MEA在CD中的运用同样缺乏MEA剂量、剂

型、用药时间等问题的用药原则总结, 益生元的使用与否亦未得到论证。

5 微生态制剂治疗IBD作用机制

通过上文可以明确MEA在IBD治疗中的作用, 但其作用机制尚不清, 目前国内外关于MEA在IBD治疗中的机制研究包括动物实验与临床研究, 主要以细胞因子、机体活性物质的调节为主要研究对象。

5.1 动物实验 国内曹艳菊^[49]将10-12周龄♂SD大鼠30只随机分为正常对照组、模型组及实验组, 每组10只, 利用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)针对模型组及实验组建立实验性结肠炎大鼠模型, 建立后给予实验组大鼠双歧三联活菌500 mg/(kg·d)灌胃, 1次/d, 共计2 wk, 期间对照组及模型组同期使用生理盐水灌胃, 2 wk后处死大鼠取材, 并利用RT-PCR及免疫组织化学分别检测大鼠肠上皮细胞内Toll样受体2及受体4(Toll-like receptors 2、4, TLR2、TLR4)表达及NF-κB p65活化情况, 结果提示实验组中TLR2表达上调, TLR4的表达及NF-κB p65活化受到抑制, 推测益生菌对于UC的治疗作用可能与上调TLR2表达、抑制TLR4-NF-κB信号通路相关。

Hudcovic等^[50]将免疫缺陷SCID小鼠及免疫正常Balb/c小鼠共分为6组, SCID小鼠及Balb/c小鼠各3组, 以SCID小鼠为例, SCID1组给予DSS诱导建立结肠炎模型, 并给予梭状芽胞杆菌灌肠治疗, SCID2组仅给予DSS诱导建立结肠炎模型, SCID3组为空白对照, Balb/c小鼠分组同SCID小鼠, 结果提示, 经梭状芽胞杆菌治疗的小鼠, 其肠黏膜上皮内TNF-α、IL-18均较未经治疗的小鼠降低, 而紧密连接蛋白ZO-1也在治疗组中得到保护。

Zhao等^[51]将40只C57/BL小鼠随机分为4组, 即空白对照组、模型组(由TNBS建模, 不给予治疗)、培菲康组(由TNBS建模, 每日给予双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌三联胶囊345 mg/kg)及美沙拉嗪组(由TNBS建模, 每日给予美沙拉嗪300 mg/kg), 建模24 h后, 培菲康组及美沙拉嗪组开始给药, 持续治疗10 d, 同期, 空白对照组及模型组灌胃生理盐水。第11天处死小鼠, 利用流式细胞术、RT-PCR、ELISA等相关技术, 检测各组小鼠肠黏膜CD4(+), CD25(+), Fox3(+)及IL-2、IL-4、IL-10、TNF-α及IFN-γ等指标, 结果提示, 在培菲康组及美沙拉嗪组中, CD4(+), CD25(+), Fox3(+)及IL-2、IL-4、IL-10表达上

调, TNF-α及IFN-γ表达下调, 考虑益生菌对于Th1与Th2细胞因子间的平衡存在调控作用。

在另外一组实验中^[52], 实验人员利用DSS诱导建立结肠炎大鼠模型, 后随机分组, 治疗组给予合生元(益生菌: Ultrabiotique; 益生元: 菊粉)治疗, 对照组仅给予生理盐水灌胃, 后对大鼠腹腔巨噬细胞培养并于上清液中发现一氧化氮(NO)的量增高, 在治疗组的大鼠中, NO量明显低于对照组, 且治疗组大鼠的肠道恢复情况明显好于对照组, 考虑NO在UC的发病过程中可能扮演重要角色, 且再次说明了微生态制剂对于UC的治疗作用。

5.2 临床试验 Dotan等^[53]对益生菌在UC治疗中机制的回顾中提到, 使用益生菌治疗UC后, 患者体内促炎性细胞因子、干扰素-γ、TNF-α以及IL-12均会下降, 且益生菌可影响致病菌对于肠黏膜的黏附, 而在分子机制层面, 益生菌对于NF-κB与热休克蛋白(heat-shock protein, HSP)的抑制带来的抗炎作用也被提及。

Soo等^[54]针对UC患者肠黏膜上碱性鞘磷脂酶活性与益生菌相关性展开研究, 他们选取15例确诊溃疡性结肠炎患者, 在给予治疗前行肠镜并给予肠黏膜活检, 检测肠黏膜碱性鞘磷脂酶活性, 并评价患者UCDAI, 之后每日给予VSL#3 2次(9×10^{11} 个细菌/次), 持续5 wk, 治疗后再次于肠镜下取材活检, 检测黏膜碱性鞘磷脂酶活性, 并再次评价患者UCDAI, 结果发现接受治疗后, 患者UCDAI由 5.3 ± 1.8946 下降至 0.70 ± 0.34 ($P = 0.02$), 且黏膜碱性鞘磷脂酶活性较治疗前升高。

Bai等^[55]随机选择临床诊断UC的患者, 并行肠镜活检取材病变黏膜, 后将病变黏膜随机分为共培养组与对照组, 在共培养组中, 将病变黏膜与双歧杆菌共培养, 并利用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测共培养后病变黏膜内TNF-α及IL-8的表达量, 利用免疫组织化学方法检测共培养病变黏膜内NF-κB P65阳性的固有层单核细胞(lamina propria mononuclear cells)数量, 结果提示共培养组TNF-α、IL-8及NF-κB P65阳性的固有层单核细胞数量均较空白对照组明显下降。

Lammers等^[56]在针对益生菌对于UC治疗机制的回顾性研究中发现, 经过益生菌治疗后的患者, 病变部位黏膜上的IL-1β、IL-8以及IFN-γ的mRNA均较空白对照组明显下降, 从而提示益生菌对于病变黏膜免疫反应存在调节作用, 降

低了促炎性细胞因子的合成与释放。

Hegazy等^[57]将明确诊断UC的30例患者随机分为两组, 实验组给予柳氮磺胺吡啶(SASP)(2400 mg/d)+益生菌, 对照组仅给予柳氮磺胺吡啶(2400 mg/d), 在给药前及治疗后8 wk, 分别利用紫外分光光度法检测病变部位结肠髓过氧化物酶活性; 利用ELISA检测病变部位肠黏膜IL-6及粪便钙卫蛋白的含量表达; 利用免疫组织化学及RT-PCR检测NF- κ B P65及TNF- α 在病变黏膜组织中的表达。结果发现上述指标均较对照组明显下降。

Cui等^[58]筛选出30例明确针对UC炎的患者, 并给予SASP及糖皮质激素治疗, 后将30例患者随机分为治疗组及对照组, 治疗组加用双歧三联活菌胶囊(BIFICO 1.26 g/d), 继续治疗8 wk, 后利用Western blot、RT-PCR、电泳迁移率变动分析(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)等技术, 检测两组患者治疗后病变黏膜处NF- κ B p65、NF- κ B DNA表达、抗炎及促炎细胞因子表达等多项指标, 结果提示: 治疗组与对照组比较, 治疗组内NF- κ B p65、NF- κ B DNA表达、促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)均较对照组下降, 而抗炎细胞因子(IL-10)则较对照组上升。

Lin等^[59]利用乳酸杆菌所产生的分泌因子影响明确临床诊断CD患者体内单核细胞及巨噬细胞, 并使用定量免疫测定、RT-PCR、ELISA等相关技术, 检测受影响后细胞因子分泌的变化, 并寻找受影响的特殊转录因子, 结果发现, 乳酸杆菌通过由脂多糖激活的单核细胞以及单核细胞源性巨噬细胞, 能够明显强烈抑制人体TNF的分泌与合成, 细胞因子MCP-1/CCL2也受影响而数量减少, 并提示人体TNF转录的调节可能是益生菌相关的免疫调节机制的起始, 乳酸杆菌通过抑制MAP的活化、蛋白激酶调节的c-Jun以及转录因子AP-1来达到免疫调节作用。

Llopis等^[60]通过手术收集CD患者肠黏膜标本, 并在体外让病变黏膜分别与大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli* ATCC 35345及干酪乳杆菌DN-114001或其DNA基因组共培养, 之后分别测定组织释放的关键促炎因子(如IL-6、TGF- β 、IL-23p19、IL-12p35、IL-17F)以及趋化因子(IL-8、CXCL1、CXCL2), 结果提示, 干酪乳杆菌DN-114001明显降低了TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6、IL-8以及CXCL1的释放, 并下调了IL-8、IL-6以及CXCL1的表达, 但对IL-23 p19、IL-12 p35以及IL-17F的表达无调控作用, *E. coli*则明显

上调了上述所有细胞因子的表达, 而干酪乳杆菌DN-114001基因组DNA则对上述细胞因子没有调控作用, 他们还发现一个有趣的现象, 即干酪乳杆菌DN-114001可以抵消*E. coli* ATCC 35345在CD中的致炎作用。

此外, 益生菌在IBD治疗中的机制还涉及与病原菌竞争性黏附于肠上皮细胞、促进上皮细胞分泌黏液、防止细菌易位; 增强巨噬细胞吞噬能力及IgA的分泌^[61,62]。

上述大量动物及临床研究, 集中体现了MEA对IBD患者体内促炎细胞因子的抑制、抗炎细胞因子的促进, 其中广泛涉及IL、IFN、TNF、NF- κ B及HSP等。但不同种类的MEA对上述细胞因子的调节作用不同, 故因UC与CD在发病过程中细胞因子参与的不尽相同, MEA治疗UC与CD亦应有所区别, 但未见相关报道同种类MEA治疗UC与CD的对比, 亦未见不同种类MEA治疗UC或CD的疗效评价, 故针对不同IBD(UC或CD)患者, MEA治疗的个体化应当受到重视。

6 结论

MEA已经逐渐成为了IBD治疗中研究热点, 其针对IBD的诱导缓解及维持缓解作用已经逐渐得到的公认, 但在临床应用中, 仍然存在不少问题。

首先, 虽有越来越多的相关研究与试验^[63,64]证明了微生态制剂在一定剂量范围内的耐受性与安全性, 但仍有少量报道^[37]提出了微生态制剂的不良反应, 如流感样症状、腹胀等轻微反应, 也曾有心内膜炎、肝脓肿、脑膜炎等严重不良反应的报道^[65]。如今尚缺乏关于MEA治疗IBD不良反应的大样本、随机、双盲研究, 用药安全值得关注。

其次, 微生态制剂品种繁多, 不同菌株、剂量及疗程的选择对于疾病的治疗至关重要, 但由于微生态制剂药理作用及各种菌株作用机制研究的欠缺, 无法为临床提供指导, 从而造成了菌株、剂量及疗程的选择缺乏针对性, 往往无法做到“择优而用”。如上文所述, MEA治疗IBD机制尚未阐明, 但发现不同种类MEA对不同细胞因子的调节作用不同, 故MEA的个体化治疗当受到重视, 通过相关研究寻找UC或CD最佳的MEA治疗方案是将来研究的重点。

再次, 在IBD的治疗中, 特别是重症患者, 抗生素的运用较为普遍, 而MEA与抗生素同时使用的方式缺乏指导, 容易造成MEA, 特别是益生菌的补充成为“徒劳”, 造成实际益生菌用量

的不足, 导致治疗效果的下降. 故MEA与抗生素同时运用时的用药方法、时间、剂量等相关问题有待进一步研究阐述.

总之, MEA在IBD治疗中的研究与发展有目共睹, 虽目前尚存在一些问题, 但相信随着分子生物学和细胞生物学等基础学科的不断发展, 未来定能将各种MEA的作用机制明确区分, 也逐渐揭示出不同MEA间的内在联系, 从而让MEA的作用机制进一步得以揭示, 增强临床用药针对性, 进一步发挥MEA在IBD治疗中作用.

7 参考文献

- Lozupone CA, Stombaugh JL, Gordon JL, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-230 [PMID: 22972295 DOI: 10.1038/nature11550]
- Yukawa T, Ohkusa T, Shibuya T, Tsukinaga S, Mitobe J, Takakura K, Takahara A, Odahara S, Matsudaira H, Nagatsuma K, Kitahara T, Kajihara M, Uchiyama K, Arakawa H, Koido S, Tajiri H. Nested culture method improves detection of *Fusobacterium* from stool in patients with ulcerative colitis. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66: 109-114 [PMID: 23514906 DOI: 10.7883/yoken.66.109]
- Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, Ikata K, Arimochi H, Iwasaki T, Ohnishi Y, Kuwahara T, Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2955-2964 [PMID: 22623042 DOI: 10.1007/s10620-012-2236-y]
- Linskens RK, Huijsdens XW, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM, Meuwissen SG. The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2001; (234): 29-40 [PMID: 11768558]
- 崔海宏, 陈村龙, 孙勇, 王亚东, 张耀东, 杨玉捷, 王群英, 潘令嘉. 炎症性肠病患者肠黏膜菌群改变及抗体反应. *胃肠病学和肝病学杂志* 2003; 12: 276-278
- Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1034-1041 [PMID: 12374228]
- Aomatsu T, Imaeda H, Fujimoto T, Takahashi K, Yoden A, Tamai H, Fujiyama Y, Andoh A. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the gut microbiota profiles of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 86: 129-135 [PMID: 22846404 DOI: 10.1159/000339777]
- Ricanek P, Lothe SM, Frye SA, Rydning A, Vatn MH, Tønnum T. Gut bacterial profile in patients newly diagnosed with treatment-naïve Crohn's disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 173-186 [PMID: 23049264 DOI: 10.2147/CEG.S33858]
- Liu X, Cui Y, Ouyang C, Li X, Lu F, Wu X. [Characteristics and differential diagnosis of intestinal flora in Crohn's disease and intestinal tuberculosis]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2010; 35: 1196-1200 [PMID: 21131744 DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347]
- Verma R, Verma AK, Ahuja V, Paul J. Real-time analysis of mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease in India. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4279-4282 [PMID: 20861337 DOI: 10.1128/JCM.01360-10]
- Reddy SS, Brandt LJ. Clostridium difficile Infection and Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 666-671 [PMID: 23507767 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31828b288a]
- Freeman HJ. Recent developments on the role of Clostridium difficile in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2794-2796 [PMID: 18473400 DOI: 10.3748/wjg.14.2794]
- Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and Clostridium difficile infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6: 53-68 [PMID: 23320050 DOI: 10.1177/1756283X12454590]
- Musa S, Thomson S, Cowan M, Rahman T. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 261-272 [PMID: 20025557 DOI: 10.3109/00365520903497098]
- Wułańska D, Banaszkiewicz A, Radzikowski A, Obuch-Woszczatyński P, Młynarczyk G, Brazier JS, Pituch H, van Belkum A. Clostridium difficile infection in Polish pediatric outpatients with inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29: 1265-1270 [PMID: 20577773 DOI: 10.1007/s10096-010-0997-9]
- Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of Clostridium difficile-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2009; 3: 4-7 [PMID: 21172241 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.09.003]
- Murthy SK, Steinhart AH, Tinmouth J, Austin PC, Daneman N, Nguyen GC. Impact of Clostridium difficile colitis on 5-year health outcomes in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1032-1039 [PMID: 23061526 DOI: 10.1111/apt.12073]
- Kim JM, Lee JY, Yoon YM, Oh YK, Youn J, Kim YJ. NF-kappa B activation pathway is essential for the chemokine expression in intestinal epithelial cells stimulated with Clostridium difficile toxin A. *Scand J Immunol* 2006; 63: 453-460 [PMID: 16764699 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2006.001756.x]
- Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, Sambol SP, Carter GP, Phumoonna T, Poon R, Adams V, Vedantam G, Johnson S, Gerding DN, Rood JI. Toxin B is essential for virulence of Clostridium difficile. *Nature* 2009; 458: 1176-1179 [PMID: 19252482 DOI: 10.1038/nature07822]
- Navaneethan U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Clostridium difficile infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 330-336 [PMID: 22405170 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.09.005]
- 刘晶晶, 袁耀宗. 难辨梭状芽孢杆菌与炎症性肠病关系的初步研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 245-248
- Sherman PM, Ossa JC, Johnson-Henry K. Unraveling mechanisms of action of probiotics. *Nutr Clin Pract* 2009; 24: 10-14 [PMID: 19244144 DOI: 10.1177/0884533608329231]
- Fujimoto T, Imaeda H, Takahashi K, Kasumi E, Bamba S, Fujiyama Y, Andoh A. Decreased abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* in the gut microbiota of Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 613-619 [PMID: 23216550 DOI: 10.1111/jgh.12073]

- 24 Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1183-1189 [PMID: 19235886 DOI: 10.1002/ibd.20903]
- 25 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 16731-16736 [PMID: 18936492 DOI: 10.1073/pnas.0804812105]
- 26 洪娜, 邱新运, 张明明, 杨晓彤, 于成功. 普拉梭菌对实验性大鼠结肠炎防治的初步研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 459-465
- 27 Thompson-Chagoyán OC, Maldonado J, Gil A. Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr* 2005; 24: 339-352 [PMID: 15896420 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.02.009]
- 28 Anderson RC, Cookson AL, McNabb WC, Kelly WJ, Roy NC. *Lactobacillus plantarum* DSM 2648 is a potential probiotic that enhances intestinal barrier function. *FEMS Microbiol Lett* 2010; 309: 184-192 [PMID: 20618863 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02038.x]
- 29 Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L, Diederichs B, Dmytrash A, Backer J, Looijer-van Langen M, Madsen KL. Secreted bioactive factors from *Bifidobacterium infantis* enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1025-G1034 [PMID: 18787064 DOI: 10.1152/ajpgi.90227.2008]
- 30 Canonici A, Pellegrino E, Siret C, Terciolo C, Czerucka D, Bastonero S, Marvaldi J, Lombardo D, Rigot V, André F. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal epithelial cell restitution by inhibiting $\alpha\beta 5$ integrin activation state. *PLoS One* 2012; 7: e45047 [PMID: 23028753 DOI: 10.1371/journal.pone.0045047]
- 31 Rajput IR, Li LY, Xin X, Wu BB, Juan ZL, Cui ZW, Yu DY, Li WF. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. *Poult Sci* 2013; 92: 956-965 [PMID: 23472019 DOI: 10.3382/ps.2012-02845]
- 32 Dharmani P, De Simone C, Chadee K. The probiotic mixture VSL#3 accelerates gastric ulcer healing by stimulating vascular endothelial growth factor. *PLoS One* 2013; 8: e58671 [PMID: 23484048 DOI: 10.1371/journal.pone.0058671]
- 33 Horinaka M, Yoshida T, Kishi A, Akatani K, Yasuda T, Kouhara J, Wakada M, Sakai T. *Lactobacillus* strains induce TRAIL production and facilitate natural killer activity against cancer cells. *FEBS Lett* 2010; 584: 577-582 [PMID: 19995562 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.12.004]
- 34 Kumar M, Nagpal R, Verma V, Kumar A, Kaur N, Hemalatha R, Gautam SK, Singh B. Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutr Rev* 2013; 71: 23-34 [PMID: 23282249 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00542.x]
- 35 Verma A, Shukla G. Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* suppresses DMH-induced procarcinogenic fecal enzymes and preneoplastic aberrant crypt foci in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats. *Nutr Cancer* 2013; 65: 84-91 [PMID: 23368917 DOI: 10.1080/01635581.2013.741746]
- 36 Bassaganya-Riera J, Viladomiu M, Pedragosa M, De Simone C, Hontecillas R. Immunoregulatory mechanisms underlying prevention of colitis-associated colorectal cancer by probiotic bacteria. *PLoS One* 2012; 7: e34676 [PMID: 22511958 DOI: 10.1371/journal.pone.0034676]
- 37 Tursi A, Brandimarte G, Papa A, Giglio A, Elisei W, Giorgetti GM, Forti G, Morini S, Hassan C, Pistoia MA, Modeo ME, Rodino S, D'Amico T, Sebkova L, Sacca' N, Di Giulio E, Luzza F, Imeneo M, Larussa T, Di Rosa S, Annese V, Danese S, Gasbarrini A. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2218-2227 [PMID: 20517305 DOI: 10.1038/ajg.2010.218]
- 38 Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 437-443 [PMID: 19174792 DOI: 10.1038/ajg.2008.118]
- 39 Ishikawa H, Matsumoto S, Ohashi Y, Imaoka A, Setoyama H, Umesaki Y, Tanaka R, Otani T. Beneficial effects of probiotic *bifidobacterium* and galactooligosaccharide in patients with ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Digestion* 2011; 84: 128-133 [PMID: 21525768 DOI: 10.1159/000322977]
- 40 Sang LX, Chang B, Zhang WL, Wu XM, Li XH, Jiang M. Remission induction and maintenance effect of probiotics on ulcerative colitis: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1908-1915 [PMID: 20397271 DOI: 10.3748/wjg.v16.i15.1908]
- 41 丁娟, 熊光苏, 杨川华, 吴江红. 益生菌制剂VSL#3对溃疡性结肠炎诱导缓解作用的系统评价. *胃肠病学* 2012; 17: 521-526
- 42 Holubar SD, Cima RR, Sandborn WJ, Pardi DS. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (6): CD001176 [PMID: 20556748 DOI: 10.1002/14651858]
- 43 Vegter S, Tolley K, Wilson Waterworth T, Jones H, Jones S, Jewell D. Meta-analysis using individual patient data: efficacy and durability of topical alicoforsen for the treatment of active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 284-293 [PMID: 23750909 DOI: 10.1111/apt.12369]
- 44 Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh SV, Cummings JH, Macfarlane S. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - a randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 872-883 [PMID: 20735782 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04417.x]
- 45 Garcia Vilela E, De Lourdes De Abreu Ferrari M, Oswaldo Da Gama Torres H, Guerra Pinto A, Carolina Carneiro Aguirre A, Paiva Martins F, Marcos Andrade Goulart E, Sales Da Cunha A. Influence of

- Saccharomyces boulardii on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 842-848 [PMID: 18584523 DOI: 10.1080/00365520801943354]
- 46 Fujimori S, Tatsuguchi A, Gudis K, Kishida T, Mitsui K, Ehara A, Kobayashi T, Sekita Y, Seo T, Sakamoto C. High dose probiotic and prebiotic cotherapy for remission induction of active Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1199-1204 [PMID: 17688660 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04535.x]
- 47 Doherty GA, Bennett GC, Cheifetz AS, Moss AC. Meta-analysis: targeting the intestinal microbiota in prophylaxis for post-operative Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 802-809 [PMID: 20055785 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04231.x]
- 48 Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F, Elahi B, Derakhshani S, Vafaie M, Abdollahi M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2524-2531 [PMID: 18270836 DOI: 10.1007/s10620-007-0171-0]
- 49 曹艳菊. 益生菌对实验性结肠炎大鼠肠黏膜TLR2、TLR4表达及NF- κ B活性的影响. *胃肠病学和肝病学杂志* 2012; 21: 760-763
- 50 Hudcovic T, Kolinska J, Klepetar J, Stepankova R, Rezanka T, Srutkova D, Schwarzer M, Erban V, Du Z, Wells JM, Hrnecir T, Tlaskalova-Hogenova H, Kozakova H. Protective effect of Clostridium tyrobutyricum in acute dextran sodium sulphate-induced colitis: differential regulation of tumour necrosis factor- α and interleukin-18 in BALB/c and severe combined immunodeficiency mice. *Clin Exp Immunol* 2012; 167: 356-365 [PMID: 22236013 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04498.x]
- 51 Zhao HM, Huang XY, Zuo ZQ, Pan QH, Ao MY, Zhou F, Liu HN, Liu ZY, Liu DY. Probiotics increase T regulatory cells and reduce severity of experimental colitis in mice. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 742-749 [PMID: 23430765 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.742]
- 52 Abdelouhab K, Rafa H, Toumi R, Bouaziz S, Medjber O, Touil-Boukoffa C. Mucosal intestinal alteration in experimental colitis correlates with nitric oxide production by peritoneal macrophages: effect of probiotics and prebiotics. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012; 34: 590-597 [PMID: 22211319 DOI: 10.3109/08923973.2011.641971]
- 53 Dotan I, Rachmilewitz D. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 426-430 [PMID: 15930982]
- 54 Soo I, Madsen KL, Tejpar Q, Sydora BC, Sherbaniuk R, Cinque B, Di Marzio L, Cifone MG, Desimone C, Fedorak RN. VSL#3 probiotic upregulates intestinal mucosal alkaline sphingomyelinase and reduces inflammation. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 237-242 [PMID: 18354751]
- 55 Bai AP, Ouyang Q, Xiao XR, Li SF. Probiotics modulate inflammatory cytokine secretion from inflamed mucosa in active ulcerative colitis. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 284-288 [PMID: 16494642 DOI: 10.1111/j.1368-5031.2006.00833.x]
- 56 Lammers KM, Vergopoulos A, Babel N, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Caramelli E, Fiorentino M, d'Errico A, Volk HD, Campieri M. Probiotic therapy in the prevention of pouchitis onset: decreased interleukin-1 β , interleukin-8, and interferon- γ gene expression. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 447-454 [PMID: 15867584 DOI: 10.1097/01.mpa.0000160302.40931.7b]
- 57 Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4145-4151 [PMID: 20806430 DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4145]
- 58 Cui HH, Chen CL, Wang JD, Yang YJ, Cun Y, Wu JB, Liu YH, Dan HL, Jian YT, Chen XQ. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1521-1525 [PMID: 15133865]
- 59 Lin YP, Thibodeaux CH, Peña JA, Ferry GD, Versalovic J. Probiotic Lactobacillus reuteri suppress pro-inflammatory cytokines via c-Jun. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1068-1083 [PMID: 18425802 DOI: 10.1002/ibd.20448]
- 60 Llopis M, Antolin M, Carol M, Borruel N, Casellas F, Martinez C, Espin-Basany E, Guarner F, Malagelada JR. Lactobacillus casei downregulates commensals' inflammatory signals in Crohn's disease mucosa. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 275-283 [PMID: 18839424 DOI: 10.1002/ibd.20736]
- 61 Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004; 126: 1620-1633 [PMID: 15168372 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.03.024]
- 62 Candela M, Perna F, Carnevali P, Vitali B, Ciati R, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, Brigidi P. Interaction of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol* 2008; 125: 286-292 [PMID: 18524406 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.012]
- 63 Jones ML, Martoni CJ, Di Pietro E, Simon RR, Prakash S. Evaluation of clinical safety and tolerance of a Lactobacillus reuteri NCIMB 30242 supplement capsule: a randomized control trial. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012; 63: 313-320 [PMID: 22561556 DOI: 10.1016/j.yrtph.2012.04.003]
- 64 Ulsemer P, Toutounian K, Kressel G, Schmidt J, Karsten U, Hahn A, Goletz S. Safety and tolerance of Bacteroides xylanisolvens DSM 23964 in healthy adults. *Benef Microbes* 2012; 3: 99-111 [PMID: 22417778 DOI: 10.3920/BM2011.0051]
- 65 Donohue DC. Safety of probiotics. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; 15: 563-569 [PMID: 17077077]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李 佳

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病被认为与宿主遗传易感性、黏膜免疫和肠道菌群有关。与正常人相比, UC患者存在不同程度的菌群失调。本文就UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究现状进行阐述。

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032

刘玉婷, 硕士研究生, 主要从事中医药防治胃肠疾病的研究。

国家中医临床研究基地龙医团队基金资助项目, No. LYTD-09

2012年度上海市自然科学基金面上资助项目, No. 12ZR1432000

作者贡献分布: 本文由郝微微指导完成; 资料搜集和分析由刘玉婷与历娜娜完成; 资料筛选由温红珠、曹丽静及李佳完成; 综述由刘玉婷完成。

通讯作者: 郝微微, 副主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科。

hao2364@hotmail.com

电话: 021-64385700-6423

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-23

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-28

Ulcerative colitis and intestinal flora

Yu-Ting Liu, Wei-Wei Hao, Na-Na Li, Hong-Zhu Wen, Li-Jing Cao, Jia Li

Yu-Ting Liu, Wei-Wei Hao, Na-Na Li, Hong-Zhu Wen, Li-Jing Cao, Jia Li, Institute of Digestive Diseases Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

Supported by: the National TCM Clinical Research Base Longyi Team Project, No. LYTD-09; the 2012 Shanghai Natural Science Foundation, No. 12ZR1432000

Correspondence to: Wei-Wei Hao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. hao2364@hotmail.com

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-28

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a serious chronic inflammatory disease characterized by recurrent episodes of intestinal ulcer, diarrhea, bloody stools and abdominal pain. The pathogenesis of UC is thought to be associated with genetic susceptibility, mucosal immunity and intestinal flora. Compared with normal people, UC patients often develop different degrees of dysbacteriosis, which mainly manifests as reduced number of good microorganisms and increased number of conditional pathogenic bacteria. In this paper, we will discuss the distribution of intestinal flora, mainly potential pathogenic bacteria and good microorganisms, in patients with UC.

■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Intestinal flora; Pathogenic bacteria; Probiotics

Liu YT, Hao WW, Li NN, Wen HZ, Cao LJ, Li J. Ulcerative colitis and intestinal flora. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2802-2807 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2802.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2802>

摘要

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是以反复发生的肠道溃疡为特征的疾病, 以腹泻、血便、腹痛等症状为主。UC的发病被认为与宿主遗传易感性、黏膜免疫和肠道菌群有关。与正常人相比, UC患者存在不同程度的菌群失调, 主要表现在益生菌数量的减少和条件致病菌数量的增多。本文就UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究现状进行了阐述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 致病菌; 益生菌

核心提示: 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 患者的肠道菌群与健康人群的存在差异, 表现在结构多样性的降低。但是在对肠道菌群进行定量培养和检测发现, 国内外的报道有差异。目前比较一致的观点认为UC患者肠道中双歧杆菌、乳杆菌数量减少。

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳. 溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展. 世界华人消化杂志. 2013; 21(27): 2802-2807 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2802.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2802>

0 引言

肠道的微生物数量巨大, 区系组成包括: 拟杆菌、真杆菌、厌氧链球菌、双歧杆菌、肠球菌、肠杆菌和乳酸菌、梭菌、酵母等^[1]。大致分为3类: (1)与宿主共生的生理性细菌: 以专性厌

氧菌为主, 包括双歧杆菌、乳杆菌、拟杆菌、梭菌; (2)与宿主共栖的条件致病菌: 以兼性厌氧菌为主, 包括肠球菌、肠杆菌; (3)病原菌: 多为过路菌。其中双歧杆菌和乳酸杆菌是两种最重要的菌群, 高厌氧菌水平和高B/E值(双歧杆菌与大肠杆菌比值)能反映人群良好的肠道环境^[2]。肠道菌群相互制约、相互依存, 保持微生物的生态平衡, 对宿主具有消化、吸收、营养、生物拮抗等生理作用, 是宿主生命必需的组成部分。

1 UC患者的肠道菌群

尽管目前UC的发病机制不明确, 但肠道菌群与UC发病的关系是近年的研究热点, 一系列的临床和动物实验显示UC患者与健康者的肠道菌群存在差异。首先, 活动期UC患者与健康对照者的肠道菌群存在差异, 而缓解期UC患者与健康者的肠道菌群无差异, 大多数的研究都支持这一观点。Nishikawa等^[3]使用细菌16S-rRNA基因限制性片段长度多态性的方法发现UC患者肠道黏膜菌群数量明显少于健康对照者。吴瑞丽等^[4]运用肠道细菌基因间重复序列-聚合酶链式反应(enterobacteria repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction, ERIC-PCR)技术对55例UC患者(30例活动期, 25例缓解期)及15例健康对照组粪便标本进行分析, 结果显示UC缓解期患者与对照组肠道菌群结构多样性无显著差异, 而UC活动期患者肠道菌群结构多样性明显降低。这与Rajilić-Stojanović等^[5]、Noor等^[6]、Andoh等^[7]、孙勇等^[8]研究结果相一致。但是, Nemoto等^[9]发现UC缓解期患者肠球菌比健康对照者增多。

对于活动期UC患者肠道菌群组成方面, 历来的研究结果千差万别。国内孙勇等^[8]、任科雨^[10]对肠道菌群进行培养, 均发现活动期UC患者的双歧杆菌、乳杆菌数量较正常对照组显著减少, 肠杆菌数量显著增加, 肠球菌及小梭菌也有增加的趋势。白鹏等^[11]也认为UC患者粪便中双歧杆菌属和乳酸杆菌属数量明显减少, 但是大肠杆菌、肠球菌含量均与正常对照无明显差异, 另外, UC患者间的肠道菌群存在个体差异较大的趋势, 而正常对照组之间差异较小, 说明UC患者肠道菌群不稳定。崔熠^[12]对UC患者乳杆菌属的研究显示乳杆菌属明显减少, 但在种的水平并非完全减少, 而是有的减少有的增加, 提示UC患者可能存在特殊的乳杆菌组, 另外肠球菌也增多, 而酵母菌、拟杆菌、双歧杆菌、大肠

杆菌、金黄色葡萄球菌及需氧菌与正常组接近。造成这些结果差异的原因可能与标本数量和实验操作有关。

国外Sha等^[13]运用实时定量基因扩增荧光检测技术(real-time quantitative polymerase chain reaction detecting system, Q-PCR)和聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术对26例UC患者、14例健康对照者的肠道菌群进行分析, 发现UC患者拟杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属和卟啉单胞菌属的数量减少, 而乳酸杆菌未减少, 肠球菌增加。Schwartz等^[14]、Macfarlane等^[15]也发现UC患者粪便中双歧杆菌数量明显减少, 且UC患者与正常对照者双歧杆菌优势菌种亦明显不同。Nemoto等^[9]的定量研究显示UC患者拟杆菌比健康人减少近10%。但Vigsnaes等^[16]采用相同的技术发现UC患者革兰阴性细菌减少, 而其中乳酸杆菌的减少尤为重要, 与国内李雄彪等^[17]的研究相一致。

通过分析, 可以得出的结论为: UC患者的肠道菌群与健康人群的存在差异, 表现在结构多样性的降低, 主要是共生菌数量的减少。但是在对肠道菌群进行定量培养和检测发现, 国内外的报道有差异, 可能与样本数量、地理位置、饮食结构、实验操作等因素有关。但目前比较一致的观点认为UC患者肠道中双歧杆菌、乳杆菌数量减少, 这为UC的治疗提供了新的思路。

2 UC患者肠道中的潜在致病菌

张静等^[18]用ERIC-PCR技术建立UC患者和健康者的粪便DNA指纹图谱, 发现UC组电泳DNA条带少, 且主带分布非常一致。说明UC可能存在较单一的肠道优势细菌, 推测其发病机制可能与特定的肠道优势细菌感染有关。目前有学者认为硫酸盐还原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)、艰难梭菌(*Clostridium difficile*, CDC)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)与UC的发病存在一定关联。

2.1 硫酸盐还原菌 Roediger等^[19]认为SRB在UC患者的粪便中增多。正常的肠道菌群将碳水化合物、脂肪或蛋白质发酵转化为丙酸盐或丁酸盐, 丁酸盐能产生能量并且有抗炎和抗癌的作用, 丁酸盐由硬壁菌门转化乳酸而来。UC患者肠道产生大量硫化氢, 硫化氢对人类细胞和上皮屏障都有损害作用削弱N-丁酸盐的氧化, 从而导致IBD炎症的发生^[20]。而SRB使用乳酸作为他

■研究前沿
进一步阐明国内外对于UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究状况, 对于临床用药有重要指导作用。

■相关报道

国外Sumei等发现UC患者拟杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属和卟啉单胞菌属的数量减少,而乳酸杆菌未减少,肠球菌增加。

们的首选的电子供体将某些物质硫酸化,因此他们与硬壁菌竞争获得碳和能源。因此SRB通过生成有毒物质和消耗生产丁酸的有益菌来加剧胃肠道疾病^[21]。SRB也在某些缓解期患者的肠道菌群中被发现^[7]。若要更深入地了解SRB在UC中的作用,还需要更深入地研究UC患者和健康者的SRB群落结构。

2.2 艰难梭菌 国内荀津等^[22]通过对56例IBD患者(36例UC患者和20例CD患者)和40例健康者粪便中艰难梭菌毒素A和毒素B的检测来分析IBD临床资料与CDC感染的相关性,结果显示,IBD患者CDC感染率明显升高,其中UC患者CDC感染率低于CD患者,活动期及结肠受累的IBD患者可能更易感染CDC。Murthy等^[23]对加拿大2002-2008年间UC住院患者的回顾性研究显示感染CDC的UC患者比未感染CDC的患者结肠切除率和死亡率增加了。Ricciardi等^[24]对IBD患者感染CDC的流行病学调查发现感染CDC的UC患者病死率大幅提高,且手术死亡率达到了25.7%。但是对于是CDC引起UC还是UC导致CDC的感染增加这一问题,目前还缺乏相关的治疗试验^[25]。这与Jodorkovsky等^[26]的研究结果一致。

2.3 大肠埃希菌 国内宋美茹等^[27]收集35例UC患者和健康对照者的粪便标本,从待测粪便标本中提取细菌基因组DNA,进行实时荧光定量PCR反应,定量分析不同细菌的数量,结果显示UC患者粪便中*E. coli*的数量较正常对照明显增多,提示*E. coli*与UC的发病有一定的关系。de Souza等^[28]采用细菌培养技术和PCR技术对11例CD患者、7例UC患者和14例健康者不同肠段活组织和粪便进行检测,发现粪便中*E. coli*没有差别,但活组织检查,尤其是CD患者的回肠、直肠和乙状结肠,UC患者的直肠和乙状结肠*E. coli*增加了。Pilarczyk-Zurek等^[29]通过对30例活动期UC患者的炎症组织和非炎症组织的结肠黏膜活检也发现在病变肠段*E. coli*增多。

3 益生菌在UC治疗中的作用

由于使用5-氨基水杨酸类药物或柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)或免疫抑制剂会产生不良作用,且治疗效果差,目前关于肠道菌群在UC患者中的研究越来越多,益生菌的使用也日益受到重视^[30,31]。一些学者^[32,33]认为UC患者致病菌分泌肠毒素,使肠上皮通透性增高,并且病菌分泌免疫抑制性蛋白,导致黏膜免疫失调,诱发炎

症的发生。而益生菌可以补充UC患者肠道中减少的菌群种类,使之恢复平衡。益生菌的标准来源于人、无致病性、高度耐受胃酸和胆汁、能黏附于肠黏膜而阻止病原微生物的黏附,有益于人体免疫。目前研究的益生菌以双歧杆菌、乳酸杆菌、酵母菌为主^[34],有研究^[35]表示双歧杆菌、乳酸杆菌、酵母菌的混合物能缓解炎症,改善结肠炎大鼠上皮屏障功能。并且服用培菲康的UC患者和小鼠,拟杆菌、双歧杆菌明显升高、小梭菌明显下降,为UC的临床治疗提供了参考^[36,37]。

3.1 乳酸杆菌 王坚镗等^[38]采用白介素10基因敲除的小鼠作为IBD动物模型,小鼠8周龄时出现肠道菌群紊乱,即乳酸杆菌和双歧杆菌减少,在连续4 wk植物乳酸杆菌治疗后,肠道菌群恢复正常。Liu等^[39]的研究显示乳杆菌K68显著抑制外周血单个核细胞产生肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2),疾病活动指数(disease activity index, DAI)和组织学评分(histological evaluation, HIS)显示口服乳杆菌K68的小鼠症状明显减轻,并且口服乳杆菌K68的小鼠TNF- α 、IL-1 β 、IL-6均减少,结肠TNF- α 、环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)、转录因子(forkhead box P3, Foxp3)、抑制细胞因子的信号3(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS3)、Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)mRNA的表达均显著降低,这与任科雨等^[10]的研究结果相一致,说明乳杆菌能够有效改善结肠黏膜炎症,具有促进抗炎作用和调节免疫活动的功能,从而达到对结肠炎的治疗作用。Wildt等^[40]对32例缓解期UC患者进行随机双盲试验,其中20例患者接受乳酸杆菌和双歧杆菌治疗,12例接受安慰剂对照治疗,结果显示治疗组未复发的比例为25%,而安慰剂组为8%,说明乳酸杆菌和双歧杆菌对缓解期的治疗起到了一定的效果。李才等^[41]也发现联合应用乳酸杆菌和SASP保留灌肠治疗UC,总有效率为93.8%,显著高于单独使用SASP保留灌肠。说明乳酸杆菌在临床上也起到了治疗效果。

3.2 双歧杆菌 目前对于双歧杆菌的作用机制研究颇多。有研究^[42]提示双歧杆菌可以提高外周血和肠系膜淋巴细胞中表达CD4⁺、CD25⁺、Foxp3⁺的T细胞的百分比率,通过调节肠道过度的免疫反应和抗炎作用,对UC发挥一定的治疗作用。翁志英等^[43]认为双歧杆菌与致病菌竞

争, 黏附于肠道黏膜, 通过抑制NF- κ B的核结合活性, 进而降低MMP-2的表达完成的, 其作用与SASP作用相当。所以, 双歧杆菌也具有改善肠道炎症和调节免疫的功能, 并且效果与SASP相当, 对UC患者有潜在的治疗作用, 为临床治疗提供了新的思路。

3.3 酵母菌 Guslandi等^[44]对24例激素治疗无效的UC患者给予美沙拉嗪和酵母菌治疗, 其中17例获得了临床缓解, 提示酵母菌能有效治疗UC。Lee等^[45]用酵母菌喂养结肠炎小鼠, 发现酵母菌可使PPAR- γ 表达增加, 并且抑制黏膜中促炎症细胞因子的表达。Chen等^[46]发现酵母菌可以调节血管生成来限制肠道炎症, 通过血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)信号的调节来促进黏膜组织修复。更有研究^[47]提示酵母菌能通过激活 α 2 β 1胶原受体整合素来增强肠上皮的修复, 酵母菌上清液含有运动因子, 能通过多种途径促进细胞恢复, 包括动态精细调节 α v β 5整合素结合活性。

4 结论

肠道菌群与UC的发病密切相关, 主要表现为共生菌的减少, 其发病机制与肠道黏膜免疫相关。但是究竟是肠道菌群改变引发了UC, 还是UC引起肠道菌群改变, 尚有待进一步研究。对于致病菌的观点也存在争议, 在这方面的研究有待完善。益生菌治疗UC已经取得了一定的疗效, 目前已有培菲康等益生菌制剂在临床使用并取得了良好的效果, 但是对于益生菌治疗时机选择、疗程、安全性等问题, 仍有待研究, 尚需大量的随机对照和长期观察研究。

一直以来, 中医药在溃疡性结肠炎的治疗中取得显著效果。目前, 已有研究^[48-50]证实中药具有改善UC大鼠肠道菌群的作用, 梁金花等^[50]用细菌培养的方法发现黄芪组的UC大鼠粪便中双歧杆菌、乳酸杆菌有所升高, 肠杆菌、肠球菌有所降低。但是在中药对UC大鼠肠道菌群的影响方面, 尚缺乏大量严谨的科学研究依据。如果能从生态学的角度阐明中药对UC患者的作用, 将会为临床治疗提供更多的选择。

5 参考文献

- 1 沈萍, 陈向东. 微生物学. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 312-313
- 2 张敏, 范小兵. 青年人肠道菌群分布及关键益生菌群落结构分析. 微生物学报 2004; 44: 621-626
- 3 Nishikawa J, Kudo T, Sakata S, Benno Y, Sugiyama T. Diversity of mucosa-associated microbiota in

- active and inactive ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 180-186 [PMID: 18825588 DOI: 10.1080/00365520802433231]
- 4 吴瑞丽, 孙自勤, 魏志. 溃疡性结肠炎肠道菌群结构ERIC-PCR指纹图谱分析. 胃肠病学和肝病杂志 2012; 21: 798-801
- 5 Rajilić-Stojanović M, Shanahan F, Guarner F, de Vos WM. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 481-488 [PMID: 23385241 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31827fec6d]
- 6 Noor SO, Ridgway K, Scovell L, Kemsley EK, Lund EK, Jamieson C, Johnson IT, Narbad A. Ulcerative colitis and irritable bowel patients exhibit distinct abnormalities of the gut microbiota. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 134 [PMID: 21073731 DOI: 10.1186/1471-230X-10-134]
- 7 Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, Saito Y, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 479-486 [PMID: 21253779 DOI: 10.1007/s00535-010-0368-4]
- 8 孙勇, 丁彦青. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群与病理变化关系的探讨. 现代消化及介入诊疗 2009; 14: 8
- 9 Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, Ikata K, Arimochi H, Iwasaki T, Ohnishi Y, Kuwahara T, Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2955-2964 [PMID: 22623042 DOI: 10.1007/s10620-012-2236-y]
- 10 任科雨. 不同浓度嗜酸乳酸杆菌对急性实验性结肠炎的疗效和结肠菌群的影响及其免疫相关机制研究. 中南大学, 2010
- 11 白鹏, 吕愈敏, 顾芳. 细菌16SrDNA荧光定量PCR法分析溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 566-571
- 12 崔熠. 溃疡性结肠炎粪便乳杆菌种的研究. 中南大学, 2012
- 13 Sha S, Xu B, Wang X, Zhang Y, Wang H, Kong X, Zhu H, Wu K. The biodiversity and composition of the dominant fecal microbiota in patients with inflammatory bowel disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75: 245-251 [PMID: 23276768 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.022]
- 14 Schwartz A, Jacobi M, Frick JS, Richter M, Rusch K, Köhler H. Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr* 2010; 157: 240-244. e1 [PMID: 20400104 DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.02.046]
- 15 Macfarlane S, Furrie E, Cummings JH, Macfarlane GT. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1690-1699 [PMID: 15227614]
- 16 Vignæs LK, Brynskov J, Steenholdt C, Wilcks A, Licht TR. Gram-negative bacteria account for main differences between faecal microbiota from patients with ulcerative colitis and healthy controls. *Benef Microbes* 2012; 3: 287-297 [PMID: 22968374 DOI: 10.3920/BM2012.0018]
- 17 李雄彪, 马庆英, 催云龙. 益生菌在肠道黏膜损伤修复中的作用. 中华消化杂志 2007; 27: 359-360
- 18 张静, 韩英, 王继恒, 王志红. UC和其他肠道疾病肠道菌群结构的ERIC-PCR指纹图谱分析. 胃肠病学和肝病杂志 2007; 16: 430-433
- 19 Roediger WE, Moore J, Babidge W. Colonic sulfide

■创新盘点

本文重点描述了UC患者肠道菌群分布, 并总结了潜在致病菌的相关报道, 最后结合益生菌在UC治疗中的作用, 全面反映了UC目前的对于菌群的研究现状, 这类综述报告极少。

■应用要点

UC患者的肠道菌群是近年的研究热点,如果能从微生物学的角度阐明中菌群对UC的作用,将会为临床治疗提供更多的选择。

- 20 Zinkevich V, Beech IB. Screening of sulfate-reducing bacteria in colonoscopy samples from healthy and colitic human gut mucosa. *FEMS Microbiol Ecol* 2000; 34: 147-155 [PMID: 11102692]
- 21 Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, Dawson C, Bai H, Waring RH, Ramsden DB, Hunter JO, Cauchi M, Bessant C, Fowler DP, Walton C, Turner C, Cole JA. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 55-68 [PMID: 22309113 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00935.x]
- 22 荀津, 夏冰, 彭谋, 陈立平, 王伟, 易烽明. 炎症性肠病与艰难梭菌感染的相关性. *武汉大学学报(医学版)* 2012; 33: 680-683
- 23 Murthy SK, Steinhart AH, Tinmouth J, Austin PC, Daneman N, Nguyen GC. Impact of *Clostridium difficile* colitis on 5-year health outcomes in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1032-1039 [PMID: 23061526 DOI: 10.1111/apt.12073]
- 24 Ricciardi R, Ogilvie JW, Roberts PL, Marcello PW, Concannon TW, Baxter NN. Epidemiology of *Clostridium difficile* colitis in hospitalized patients with inflammatory bowel diseases. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 40-45 [PMID: 19273954 DOI: 10.1007/DCR.0b013e31819733fd]
- 25 Goodhand JR, Alazawi W, Rampton DS. Systematic review: *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 428-441 [PMID: 21198703 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04548.x]
- 26 Jodorkovsky D, Young Y, Abreu MT. Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 415-420 [PMID: 19255850 DOI: 10.1007/s10620-009-0749-9]
- 27 宋美茹, 姚萍. 应用实时荧光定量PCR定量检测溃疡性结肠炎肠道大肠埃希菌、乳酸杆菌及双歧杆菌属的变化. *中国微生态学杂志* 2012; 24: 239-243
- 28 de Souza HL, de Carvalho VR, Romeiro FG, Sassaki LY, Keller R, Rodrigues J. Mucosa-associated but not luminal *Escherichia coli* is augmented in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut Pathog* 2012; 4: 21 [PMID: 23234341 DOI: 10.1186/1757-4749-4-21]
- 29 Pilarczyk-Zurek M, Chmielarczyk A, Gosiewski T, Tomusiak A, Adamski P, Zwolinska-Wcislo M, Mach T, Heczko PB, Strus M. Possible role of *Escherichia coli* in propagation and perpetuation of chronic inflammation in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 61 [PMID: 23566070 DOI: 10.1186/1471-230X-13-61]
- 30 麻继臣, 张晓岚. 微生态制剂做为溃疡性结肠炎缓解期维持治疗药物的系统评价. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4123-4127
- 31 李佳, 郝微微, 温红珠, 历娜娜. 益生菌在溃疡性结肠炎中的应用. *辽宁中医药大学学报* 2012; 14: 44-47
- 32 常玉英, 欧阳钦. 微生态失衡与炎症性肠病. *国际消化病杂志* 2008; 28: 34-36
- 33 廖文燕, 周凌华, 王荫榆, 王豪, 周杰. 近年来益生菌肠道功能作用机制及研究方法的进展. *中国微生态学杂志* 2011; 23: 184-189
- 34 沈通一, 秦环龙. 益生菌对肠微生物生态学影响的研究进展. *肠外与肠内营养* 2004; 11: 242-246
- 35 Ghasemi-Niri, Seyedeh Farnaz, Solki, Sara. Better efficacy of lactobacillus casei in combination with bifidobacterium bifidum or saccharomyces boulardii in recovery of inflammatory markers of colitis in rat. *Asian journal of animal and veterinary advances* 2012; 7: 1148-1156 [DOI: 10.3923/ajava.2012.1148.1156]
- 36 Cui HH, Chen CL, Wang JD, Yang YJ, Cun Y, Wu JB, Liu YH, Dan HL, Jian YT, Chen XQ. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1521-1525 [PMID: 15133865]
- 37 Zhao HM, Huang XY, Zuo ZQ, Pan QH, Ao MY, Zhou F, Liu HN, Liu ZY, Liu DY. Probiotics increase T regulatory cells and reduce severity of experimental colitis in mice. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 742-749 [PMID: 23430765 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.742]
- 38 王坚镏, 丁在咸, 张旻, 陈红旗, 秦环龙, 蒋燕群. 益生菌对炎症性肠病小鼠肠道菌群紊乱及细菌移位的影响. *上海交通大学学报(医学版)* 2010; 30: 186-190
- 39 Liu YW, Su YW, Ong WK, Cheng TH, Tsai YC. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* K68 ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in BALB/c mice via the anti-inflammatory and immunomodulatory activities. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 2159-2166 [PMID: 21996541 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.09.013]
- 40 Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. A randomised double-blind placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 115-121 [PMID: 21453880 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.11.004]
- 41 李才, 刘华莲, 李文峰. 复方乳酸杆菌联合柳氮磺吡啶灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察. *中国现代医生* 2011; 49: 81-82
- 42 姚君, 王立生, 师瑞月, 王建尧, 李迎雪, 张茹, 莫镜. 双歧杆菌对溃疡性结肠炎小鼠外周血和肠系膜淋巴结CD4、CD25、Foxp3调节T细胞表达的影响. *中国微生物学杂志* 2011; 23: 784-787
- 43 翁志英, 操寄望, 罗和生. 双歧杆菌对大鼠溃疡性结肠炎黏膜MMP-2、NF- κ B激活的影响. *武汉大学学报(医学版)* 2006; 17: 699-702
- 44 Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 697-698 [PMID: 12840682]
- 45 Lee SK, Kim YW, Chi SG, Joo YS, Kim HJ. The effect of *Saccharomyces boulardii* on human colon cells and inflammation in rats with trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 255-263 [PMID: 18612822 DOI: 10.1007/s10620-008-0357-0]
- 46 Chen X, Yang G, Song JH, Xu H, Li D, Goldsmith J, Zeng H, Parsons-Wingerter PA, Reinecker HC, Kelly CP. Probiotic yeast inhibits VEGFR signaling and angiogenesis in intestinal inflammation. *PLoS One* 2013; 8: e64227 [PMID: 23675530 DOI: 10.1371/journal.pone.0064227]
- 47 Canonici A, Pellegrino E, Siret C, Terciolo C, Czerucka D, Bastonero S, Marvaldi J, Lombardo D, Rigot V, André F. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal epithelial cell restitution by inhibiting $\alpha\beta 5$ integrin activation state. *PLoS One* 2012; 7: e45047 [PMID: 23028753 DOI: 10.1371/journal.pone.0045047]

- 48 叶松. 中药清肠汤对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道菌群和HLR/NF κ B信号通路的影响. 中华中医药学会第二十二届全国脾胃病学术交流会暨2010年脾胃病诊疗新进展学习班论文汇编. 中华中医药学会脾胃病分会 2010; 9
- 49 詹原泉. 肠黏膜损伤与肠道菌群失调的关系及肠炎清对二者影响. 广州中医药大学, 2008
- 50 梁金花, 郑科文, 金大伟. 黄芪多糖对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群调节作用的研究. 中国中医药科技 2012; 19: 4-6

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



■同行评价

本研究综述了UC与肠道菌群的研究进展, 能较全面地反映目前的研究现状. 肠道稳态在UC中的作用日益引起重视, 因此本综述具有较强的临床意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用

邢 琨, 张开光

■背景资料

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)技术在80年代初应用于临床,目前已经逐渐发展成为观察消化系管壁及其周围结构的一项重要工具,被称为消化系内镜学中最为精确的影像技术。随着EUS技术的发展,消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)在临床上越来越多的被发现, EUS目前被认为是对于消化系SMLs诊断准确性最高的影像学方法。

邢琨, 张开光, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院消化内科 安徽省合肥市 230001

邢琨, 安徽医科大学临床医学本硕连读专业在读研究生, 主要从事消化内科学的研究。

作者贡献分布: 本文综述由邢琨完成; 张开光审校。

通讯作者: 张开光, 教授, 主任医师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院消化内科。

zkg@medmail.com.cn

电话: 0551-62284093

收稿日期: 2013-06-04 修回日期: 2013-07-29

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions

Jun Xing, Kai-Guang Zhang

Jun Xing, Kai-Guang Zhang, Department of Gastroenterology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Kai-Guang Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. zkg@medmail.com.cn

Received: 2013-06-04 Revised: 2013-07-29

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

Advances in endoscopic imaging technology have led to the detection of more cases of gastrointestinal submucosal lesions (SMLs). Endoscopic ultrasonography (EUS) was previously known as the best imaging procedure to characterize SMLs. However, the progress of endoscopic submucosal dissection (ESD) has raised some new questions concerning the role of EUS in the diagnosis of SMLs. What is the diagnostic accuracy of EUS for SMLs? How is the nature of SMLs determined? How is the layer of origin identified? What is the preoperative value of EUS for ESD? In this review, we will discuss the endosonographic features of SMLs, the diagnostic accuracy of EUS, the ability of EUS to distinguish benign and malignant SMLs, the value of EUS-guided fine-needle aspiration (FNA), and the value of EUS in clinical surveillance.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Gastrointestinal submucosal lesions

Xing J, Zhang KG. Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2808-2814 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2808.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2808>

摘要

随着内镜技术的发展,消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)在临床上越来越多的被发现。超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)既往被认为是消化系SMLs诊断的一项可靠的技术。但随着EUS在临床的广泛应用和内镜下大黏膜剥离(endoscopic submucosal dissection, ESD)技术深入开展,现对EUS诊断SMLs提出了新的问题: EUS判断SMLs的准确性如何,能否鉴别各种SMLs的性质,对病变侵袭层次的定位及对ESD等手术的术前判断价值如何等。本文重点就这些问题总结了近10年来国内外文献相关研究报道,从EUS对消化系SMLs性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS引导下细针穿刺技术(EUS-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)、EUS的随访价值等方面对EUS在消化系SMLs中的应用作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声内镜; 消化系黏膜下病变

核心提示: 本文从超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS引导下细针穿刺技术(EUS-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)、EUS的随访价值等方面,系统综述了国内外近10年来关于EUS在消化系SMLs中的应用价值,认为EUS技术是目前对于消化系SMLs诊断最重要的工具,下一步需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究,来帮助制定临床对于消化系SMLs诊疗的规范。

■同行评议者

毛高平, 教授, 解放军空军总医院

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

邢琨, 张开光. 超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2808-2814 URL: <http://www.wjgnet.com>

wjgnet.com/1009-3079/21/2808.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2808>

0 引言

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)是经内镜导入高频微型超声探头,通过体腔在内镜直视下对消化系管壁或邻近脏器进行超声扫描的方法.在80年代初应用于临床,目前已经逐渐成为观察消化系管壁及其周围结构的一项重要工具,被称为消化系内镜学中最为精确的影像学技术.EUS是目前对于消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)诊断准确性最高的影像学方法^[1-4].

消化系SMLs或称为黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)是对生长于消化系黏膜层以下的,非肿瘤性或肿瘤性(包括良性和恶性)病变的统称.目前对SMLs在整个消化系的发病率尚缺乏准确的流行病学资料,有报道称SMLs的发病率为0.36%^[5-7].大部分SMLs患者没有临床症状,一般是在内镜或放射线检查中无意间被发现,少数病例存在一些非特异性的症状,包括出血、梗阻、腹痛、吞咽困难等^[8-10].

正常消化系的EUS图像特点: EUS扫描时,正常消化系管壁从里至外可显示为“高-低-高-低-高”五层回声结构,分别对应于黏膜层表面与腔内液体界面的反射(高回声带)、黏膜肌层(低回声带)、黏膜下层(高回声带)、固有肌层(低回声带)、浆膜(或外膜)层(高回声带).

1 EUS对消化系SMLs性质的判断

EUS可以通过病变大小、起源层次、回声结构、边缘等对SMLs的性质作出大致的判断^[11,12].

1.1 外压性改变 内镜检查首先需要将真正SMLs与外压性改变(包括:脾、肝左叶、胆囊、胰腺假性囊肿或肿瘤、肿大淋巴结、扩大的左心房、主动脉瘤和脾动脉等)相鉴别.EUS优于普通内镜、经腹超声、CT、消化系钡餐等其他检查,对器官外压性改变的诊断有接近100%的准确性^[1,5].

1.2 脂肪瘤 脂肪瘤可发生在消化系各个部位,最常见于结肠.内镜下表现为单个黄色、质软、边缘光滑的病变,EUS下表现为均质、高回声、边缘光滑清晰的圆形或卵圆形病变,起源于第3层,EUS表现具有特异性,内镜下的随访提示其生长速度缓慢.

1.3 平滑肌瘤 平滑肌瘤多数位于食道,结直肠,

在胃及小肠比较少见.EUS下表现为均质,低回声,边缘光滑清晰的病变,起源于第2或4层.一般单纯通过EUS下表现难以与胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal cell tumors, GISTs)相鉴别,免疫组织化学标记提示平滑肌瘤表达肌动蛋白和肌间线蛋白,不表达CD117或CD34以及S-100蛋白^[13,14].

1.4 异位胰腺 异位胰腺又称迷路胰腺或副胰,是存在于正常胰腺位置以外的孤立胰腺组织,与正常胰腺之间无解剖学联系.约90%的异位胰腺位于上消化道,主要是胃(通常位于胃窦)、十二指肠、空肠.内镜下异位胰腺呈实性,略不规则的结节样改变,多数在黏膜表面有脐样凹陷的腺管开口.EUS下异位胰腺大部分起源于第3层,表现为低回声,或者混合回声的不均质病变,有的还包括无回声的腺管结构,边缘不规则.

1.5 颗粒细胞瘤 颗粒细胞瘤是起源于神经组织的肿瘤,多数为良性病变,约30%的消化系颗粒细胞瘤发生在中段到远段食道,内镜下表现为灰白色或黄色小结节样病变(其中95%的病变小于1 cm),EUS下表现为不均质、低回声、边界光滑的病变,起源于第2、3层.免疫组织化学标记表达S100蛋白和神经元特异性烯醇化酶(提示其神经组织来源).

1.6 曲张静脉 胃静脉曲张通常发生在胃底,表现为正常黏膜覆盖下的浅蓝色波状或管状结构,外压时会发生移动,当怀疑为静脉曲张时禁忌活检.EUS下表现为圆形或卵圆形弯曲或管状无回声结构,起源于第3层,多普勒超声下检测到血流信号具有诊断意义.

1.7 囊肿及复生囊肿 消化系囊肿通常是炎症反应的结果,也有的来源于胚胎发育.内镜下囊肿表现为可压缩的结节,多数凸向腔内,EUS下表现为圆形或卵圆形,边界清楚的无回声病变,起源于第3层.炎性囊肿壁为1层高回声结构,复生囊肿壁一般为3到5层结构.

1.8 施旺细胞瘤(神经鞘瘤) 施旺细胞瘤是发生在软组织的一种良性神经鞘瘤,在消化系较少见,与GISTs在消化系的发生率之比是1:50-100^[15],大部分发生在胃,多数无症状,免疫组织化学标记表达S-100而不表达c-kit, EUS表现为均质、低回声、圆形或卵圆形病变,边界清楚,起源于第3、4层.

1.9 淋巴瘤 淋巴瘤累及消化系并不是真正意义上的SMLs, EUS表现为低回声、均质病变,起源于第2、3层,有时也累及各个层次.

■ 研发前沿

随着EUS技术在临床上的广泛应用,越来越多的消化系SMLs得以被发现,对于消化系SMLs的诊疗成为临床面临的新课题,目前对于SMLs国内外尚无统一的诊疗规范可循,本文在此基础上,综述了国内外近10年的相关研究报道,旨在为EUS对消化系SMLs的临床诊疗提供一定的参考价值.

■创新盘点

国内目前对于EUS在消化系SMLs中的应用有不少相关报道,但多数为回顾性病例报道,系统的综述性文献尚较少,本文对国内外近10年的相关研究进行了综述,对临床诊疗有一定的参考价值,为下一步的相关研究提供了一定的方向。

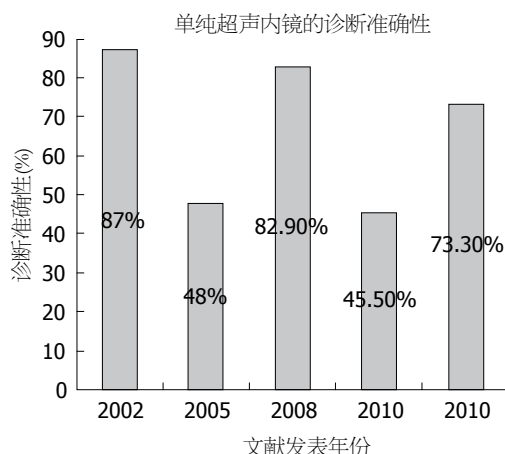


图1 超声内镜诊断的准确性。

1.10 类癌(神经内分泌肿瘤) 类癌是一种较为罕见的,生长缓慢的来源于嗜铬细胞的神经内分泌肿瘤,可以发生在整个消化系,具有恶性潜能,类癌是小肠最常见的肿瘤,小肠类癌占全部类癌的25%^[16]。其恶性程度部分取决于其大小(<2 cm的类癌一般很少为恶性)。大多数在EUS下表现为低回声、边界清楚、均质的病变,可起源于第1、2或3层。

1.11 GISTs GISTs是最常见的消化系间叶源性肿瘤,来源于可以分化为Cajal间质细胞(肠道起搏细胞)的前体细胞,GISTs大部分发生在胃(60%-70%)、小肠(20%-30%)、结直肠(5%),食管的发生率<5%,发生在小肠的GISTs更具有侵袭性^[1,15]。GISTs在光镜下的表现为梭形或上皮样细胞,常常容易与平滑肌瘤相混淆。约95%的GISTs在免疫组织化学染色表达c-kit(又称为CD117),约70%的GISTs表达CD34^[17]。EUS下表现为均质、低回声、边界清晰的病变,与第4层相延续。目前认为所有的GISTs都有恶性潜能,所以提倡按照恶性风险度的高低分为:极低风险、低风险、中等风险、高风险4类^[18,19]。

其他一些较为少见的SMLs,如:黏膜下转移瘤、血管瘤和淋巴管瘤等也都有其EUS下特点,本文就不再叙述。

2 EUS的诊断准确性

国内外有很多关于EUS的诊断准确性的研究。在一个76例间叶源性肿瘤的回顾性研究中,EUS对病变的定位准确性是98.7%,对间叶源性肿瘤诊断准确性为82.9%,对良恶性病变的鉴别准确性是80.3%^[20]。一个22例<2 cm的SMLs的回顾性研究中EUS的诊断准确性是45.5%,其中对于肿

瘤性病变和非肿瘤性病变的诊断准确性分别是30.8%和66.7%^[21]。另一个23例SMLs的前瞻性研究中,EUS的病理诊断符合率为48%^[22]。大部分错误的EUS诊断发生在起源于第3、4层的低回声病变^[21-23]。目前相关研究多以回顾性研究为主,EUS的诊断准确性在不同的研究中差异较大(图1),这可能与不同研究的设计方法不同以及操作者本身的差异有关。EUS目前认为对于脂肪瘤、复生囊肿、异位胰腺、外压性改变等有较高的诊断准确性。大部分病变,特别是起源于第3、4层的低回声病变,单纯凭借EUS的诊断准确性是有限的,需要结合活检,EUS-FNA,手术等方式通过组织学和细胞学才能得到特异性的诊断^[24-26]。

3 EUS对良恶性SMLs的鉴别

EUS对SMLs良恶性的鉴别有很重要的临床意义。有文献总结了病理证实的829例SMLs,恶性病变所占的比例平均为12%。恶性SMLs在食道和十二指肠比例分别为1%和5%,在胃为16%^[5]。

目前有许多关于消化系SMLs的超声表现与病变良恶性的相关性研究(表1),总体来说,病变大小(>3或者4 cm,根据不同的研究而异)以及边缘不规则,是推测恶性病变最重要的两个因素^[5,27,28]。其他被提到与恶性病变相关的因素有:回声焦点,囊性变,不均质回声结构,恶性淋巴结,侵袭性生长方式,黏膜表面溃疡以及非圆形或卵圆形结构等^[29,30]。相关研究之间结论的一致性较少,原因可能是病变大小的评估标准,统计学方法的不同,此外检查者本身也是非常重要的影响因素。有报道EUS下同一特征的出现,在不同的检查者的判断之间存在很大的差异。但现有的研究多以小样本回顾性研究为主,需要进一步大样本,多中心的前瞻性研究。

4 EUS-FNA

EUS-FNA在90年代早期应用于临床,是一项安全而有效的活检技术,被广泛应用于消化系SMLs的诊断,国内外也有很多相关报道。Ji等^[20]报道在112例起源于上消化道第4层的SMLs中,EUS-FNA确诊为61.6%,疑似诊断22.3%^[31]。Karaca等^[21]报道在141例连续的消化系SMLs中,EUS-FNA确诊病例占43.3%,疑似确诊病例占39%^[32]。在50例上消化系SMLs的前瞻性的研究中,EUS-FNA对间叶源性肿瘤的诊断敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和诊断准确性分别为82.9%、73.3%、87.9%、64.7%和80%^[33]。图2总

表 1 SMLs EUS表现对病变良恶性的鉴别

作者、年份 研究类型(引用文献)	预测恶性的特征	诊断恶性的标准	敏感性	特异性
Chak等 ^[47] , 1997年, 回顾性研究	不规则边缘, 囊性变>4 mm, 回声焦点>3 mm	出现2个或以上	80%~90%(8~9/10)	无数据
Palazzo等 ^[27] , 2000年, 回顾性研究	不规则边缘, 囊性变, 恶性生长淋巴结	出现1个或以上	91%(20/22)	88%(30/34)
Brand等 ^[28] , 2002年, 回顾性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构	同时出现2个	80%(16/20)	77%(51/66)
Rösch等 ^[48] , 2002年, 前瞻性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构, 出现>10 mm的淋巴结	出现2个或以上	64%(7/11)	80%(24/30)
Nickl等 ^[49] , 2002年, 回顾性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 黏膜表面溃疡, 非圆形或非卵圆形结构, 异常区域淋巴结	出现1个或以上	100%(11/11)	无数据
Ando等 ^[50] , 2003年, 前瞻性研究	病变>5 cm, 不规则边缘, 囊性变	病变大于5 cm加其他任一条或两条	83%(5/6)	76%(13/17)
Will等 ^[2] , 2011年, 前瞻性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构, 肿大的淋巴结	多元分析	71%	81%

■应用要点

本文从EUS对消化系SMLs性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS-FNA、EUS的随访价值等方面对EUS在消化系SMLs中的应用作一综述。肯定了EUS对于消化系SMLs诊断的重要价值, 同时介绍了单纯的EUS对于SMLs, 尤其是起源于第3、4层的低回声病变的诊断的局限性。明确了在将来需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究。

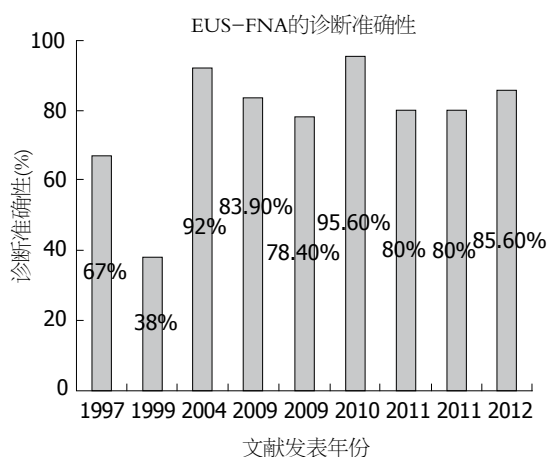


图 2 EUS-FNA诊断的准确性。所选取的数据包括了疑似诊断(镜下见梭形细胞但样本量不足用于免疫组织化学标记确诊)的数据。EUS-FNA: 超声内镜引导下细针穿刺技术。

总结了部分文献关于EUS-FNA对消化系SMLs的诊断准确性, 可以看出, 近年来随着EUS-FNA技术的进步, EUS-FNA对于SMLs的诊断准确性是相对较高的。研究认为EUS-FNA对SMLs的诊断率与病变的部位、大小、性质以及一些技术因素(包括穿刺针的型号, 活检技术材料)等有关, 此外操作者的技术, 现场即时的细胞病理学检查等对于EUS-FNA诊断率有重要影响。对于起源于第3、4层的低回声SMLs, 当病变直径超过2 cm时, 实施EUS-FNA明确组织学和细胞学类型是有益的, 可以帮助指导临床下一步诊疗^[34-38]。

5 EUS的随访

大部分良性SMLs如: 脂肪瘤、异位胰腺、复生

囊肿、神经鞘瘤等不再需要进一步的临床干预, 而一些有症状的或者明确为恶性的病变需要手术或内镜下治疗。约有50%消化系SMLs患者没有相关临床症状, 病变<3-4 cm, 也没有EUS下的恶性表现; 此外也有一些患者不适合切除或者不愿意接受手术^[5,39]。美国胃肠病学学会推荐对于>3 cm的病变进行切除, 对于<3 cm的, 低回声, 起源于第3、4层, 无症状的病变(大部分可能是GISTs)进行周期性的内镜或EUS随访或者也可以选择切除^[40,41]。欧洲肿瘤学会最新的指南认为, 病理证实的>2 cm的GISTs需要手术切除, <2 cm者可以选择随访^[42,43]。

EUS在SMLs中的随访研究也有很多的报道, 有回顾性的研究报道, 大部分<3 cm的SMLs在中位数为23 mo(平均为30 mo)的时间里不发生变化, 同时在回声结构或病变大小方面发生变化的病变提示为GISTs可能^[44]。另一个49例起源于第4层的无症状低回声, <3 cm的SMLs随访研究报道, 在为期31 mo±20.8 mo的随访时间内, 89.8%(44/49)的病例在病变的大小及回声结构方面无变化。在病变大小发生改变的病例中有3例经病理证实为极低或者低风险度的GISTs^[45]。

需要补充说明的是患者在随访中的依从性较差, 只有50%的患者有良好的依从性。分析认为费用以及患者对反复多次内镜检查的不耐受可能是随访丢失的主要原因^[46]。

对于内镜, EUS的随访缺乏有足够证据支持的标准, 关于SMLs的自然演变过程的数据也非常少。理智的选择是初期选择短期的随访(3 mo

同行评价

本文内容尚属翔实可靠, 重点突出, 对于超声内镜目前的临床应用现状评价客观, 是较好的一篇综述, 对临床有一定参考价值。

或者半年), 如果在随访过程中没有任何病变增大的证据, 就可放宽随访期限。相关研究表明大部分在随访中有病变大小或回声结构改变的病变为具有不同恶性风险程度的GISTs, 鉴于所有的GISTs都有恶性潜能, 所以超声内镜下的随访是必要的。

6 结论

EUS技术是目前对于消化系统SMLs诊断最重要的工具, 可以很好的鉴别SMLs和外压性改变, 对于部分具有特征性表现的SMLs具有很高的诊断准确性。单纯的EUS目前对于SMLs, 尤其是起源于第3、4层的低回声病变的诊断准确性有限, 联合EUS-FNA技术可以提高诊断的准确性, 同时EUS在SMLs的随访中具有重要意义。但目前对EUS的诊断价值方面的研究多以回顾性为主, 样本量较小, 下一步需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究, 来帮助制定临床对于消化系统SMLs诊疗的规范。

7 参考文献

- Sakamoto H, Kitano M, Kudo M. Diagnosis of subepithelial tumors in the upper gastrointestinal tract by endoscopic ultrasonography. *World J Radiol* 2010; 2: 289-297 [PMID: 21160683 DOI: 10.4329/wjr.v2.i8.289]
- Will U, Fueeldner F, Mueller AK, Meyer F. A prospective study on endoscopic ultrasonography criteria to guide management in upper GI submucosal tumors. *Pol Przegl Chir* 2011; 83: 63-69 [PMID: 22166282 DOI: 10.2478/v10035-011-0010-z]
- Alkhatib AA, Faigel DO. Endoscopic ultrasonography-guided diagnosis of subepithelial tumors. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012; 22: 187-205, vii [PMID: 22632943 DOI: 10.1016/j.giec.2012.04.006]
- Hata S, Arai M, Suzuki T, Maruoka D, Matsumura T, Nakagawa T, Katsuno T, Imazeki F, Yokosuka O. Clinical significance of endoscopic ultrasound for gastric submucosal tumors. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 207-212 [PMID: 22633196 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.04.004]
- Polkowski M, Butruk E. Submucosal lesions. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2005; 15: 33-54, viii [PMID: 15555950 DOI: 10.1016/j.giec.2004.07.005]
- Papanikolaou IS, Triantafyllou K, Kourikou A, Rösch T. Endoscopic ultrasonography for gastric submucosal lesions. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 86-94 [PMID: 21772939 DOI: 10.4253/wjge.v3.i5.86]
- Landi B, Palazzo L. The role of endosonography in submucosal tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 679-701 [PMID: 19744633 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.05.009]
- Kim MY, Jung HY, Choi KD, Song HJ, Lee JH, Kim do H, Choi KS, Lee GH, Kim JH. Natural history of asymptomatic small gastric subepithelial tumors. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 330-336 [PMID: 21278578 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318206474e]
- Chung IK, Hawes RH. Advantages and limitations of endoscopic ultrasonography in the evaluation and management of patients with gastrointestinal submucosal tumors: a review. *Rev Gastroenterol Disord* 2007; 7: 179-192 [PMID: 18192954]
- Jenssen C, Dietrich CF. Endoscopic ultrasound of gastrointestinal subepithelial lesions. *Ultraschall Med* 2008; 29: 236-256; quiz 257-264 [PMID: 18516768 DOI: 10.1055/s-2008-1027388]
- Ponsaing LG, Kiss K, Loft A, Jensen LI, Hansen MB. Diagnostic procedures for submucosal tumors in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3301-3310 [PMID: 17659668]
- Oh JY, Nam KJ, Choi JC, Cho JH, Yoon SK, Choi SS, Kwon HJ, Yoon JH, Kim SJ. Benign submucosal lesions of the stomach and duodenum: imaging characteristics with endoscopic and pathologic correlation. *Eur J Radiol* 2008; 67: 112-124 [PMID: 17720347]
- Humphris JL, Jones DB. Subepithelial mass lesions in the upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 556-566 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05232.x]
- 陈立刚, 任建林. 超声内镜在食管常见疾病诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3216-3218
- Sepe PS, Brugge WR. A guide for the diagnosis and management of gastrointestinal stromal cell tumors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 363-371 [PMID: 19365407]
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-959 [PMID: 12569593 DOI: 10.1002/cncr.11105]
- Dietrich CF, Jenssen C, Hocke M, Cui XW, Woenckhaus M, Ignee A. Imaging of gastrointestinal stromal tumours with modern ultrasound techniques - a pictorial essay. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 457-467 [PMID: 22581701 DOI: 10.1055/s-0031-1282076]
- Voiosu T, Voiosu A, Rimbaş M, Voiosu R. Endoscopy: possibilities and limitations in the management of GIST of the upper GI tract. *Rom J Intern Med* 2012; 50: 7-11 [PMID: 22788088]
- Faigel DO, Abulhawa S. Gastrointestinal stromal tumors: the role of the gastroenterologist in diagnosis and risk stratification. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 629-636 [PMID: 22858511 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182548f6c]
- Ji F, Wang ZW, Wang LJ, Ning JW, Xu GQ. Clinicopathological characteristics of gastrointestinal mesenchymal tumors and diagnostic value of endoscopic ultrasonography. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: e318-e324 [PMID: 18505417 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05322.x]
- Karaca C, Turner BG, Cizginer S, Forcione D, Brugge W. Accuracy of EUS in the evaluation of small gastric subepithelial lesions. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 722-727 [PMID: 20171632 DOI: 10.1016/j.gie.2009.10.019]
- Hwang JH, Saunders MD, Rulyak SJ, Shaw S, Nietsch H, Kimmey MB. A prospective study comparing endoscopy and EUS in the evaluation of GI subepithelial masses. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 202-208 [PMID: 16046979 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)01567-1]
- Chien CH, Chien RN, Yen CL, Fang KM, Liu CJ, Lin CL, Chang JJ, Chen LW, Lee TS, Chen SW, Hu CC, Chang LC. The role of endoscopic ultrasonography examination for evaluation and surveillance of gastric subepithelial masses. *Chang Gung Med J* 2010;

- 33: 73-81 [PMID: 20184798]
- 24 Lee HL, Kwon OW, Lee KN, Jun DW, Eun CS, Lee OY, Jeon YC, Han DS, Yoon BC, Choi HS, Hahm JS, Paik SS. Endoscopic histologic diagnosis of gastric GI submucosal tumors via the endoscopic submucosal dissection technique. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 693-695 [PMID: 21762901 DOI: 10.1016/j.gie.2011.04.037]
- 25 Humphris JL, Jones DB. Subepithelial mass lesions in the upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 556-566 [PMID: 18086121 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05232.x]
- 26 丁向萍, 张锦华, 庄剑波, 缪连生, 张富花, 袁菊霞, 陈丽. 超声内镜下诊治上消化道良性隆起型病变118例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2208-2211
- 27 Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut* 2000; 46: 88-92 [PMID: 10601061 DOI: 10.1136/gut.46.1.88]
- 28 Brand B, Oesterhelweg L, Binmoeller KF, Sriram PV, Bohnacker S, Seewald S, De Weerth A, Soehendra N. Impact of endoscopic ultrasound for evaluation of submucosal lesions in gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 290-297 [PMID: 12038814 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80150-5]
- 29 Huang ZG, Zhang XS, Huang SL, Yuan XG. Endoscopy dissection of small stromal tumors emerged from the muscularis propria in the upper gastrointestinal tract: Preliminary study. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 565-570 [PMID: 23293727 DOI: 10.4253/wjge.v4.i12.565]
- 30 Polkowski M. Endoscopic diagnosis and treatment of upper gastrointestinal tumors. *Endoscopy* 2010; 42: 916-920 [PMID: 21072707]
- 31 Hoda KM, Rodriguez SA, Faigel DO. EUS-guided sampling of suspected GI stromal tumors. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1218-1223 [PMID: 19394006 DOI: 10.1016/j.gie.2008.09.045]
- 32 Mekky MA, Yamao K, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Nafeh MA, Osman AM, Koshikawa T, Yatabe Y, Bhatia V. Diagnostic utility of EUS-guided FNA in patients with gastric submucosal tumors. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 913-919 [PMID: 20226456 DOI: 10.1016/j.gie.2009.11.044]
- 33 Turhan N, Aydog G, Ozin Y, Cicek B, Kurt M, Oguz D. Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration for diagnosing upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective study of 50 cases. *Diagn Cytopathol* 2011; 39: 808-817 [PMID: 20836005 DOI: 10.1002/dc.21464]
- 34 Williams DB, Sahai AV, Aabakken L, Penman ID, van Velse A, Webb J, Wilson M, Hoffman BJ, Hawes RH. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy: a large single centre experience. *Gut* 1999; 44: 720-726 [PMID: 10205212 DOI: 10.1136/gut.44.5.720]
- 35 Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, Chang KJ, Wiersema LM. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology* 1997; 112: 1087-1095 [PMID: 9097990 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70164-1]
- 36 Vander Noot MR, Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun I, Jhala D, Jhala N, Syed S, Chhieng DC. Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Cancer* 2004; 102: 157-163 [PMID: 15211474 DOI: 10.1002/cncr.20360]
- 37 Sepe PS, Moparty B, Pitman MB, Saltzman JR, Brugge WR. EUS-guided FNA for the diagnosis of GI stromal cell tumors: sensitivity and cytologic yield. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 254-261 [PMID: 19482280 DOI: 10.1016/j.gie.2008.11.038]
- 38 Rong L, Kida M, Yamauchi H, Okuwaki K, Miyazawa S, Iwai T, Kikuchi H, Watanabe M, Imaizumi H, Koizumi W. Factors affecting the diagnostic accuracy of endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) for upper gastrointestinal submucosal or extraluminal solid mass lesions. *Dig Endosc* 2012; 24: 358-363 [PMID: 22925290 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01243.x]
- 39 Lok KH, Lai L, Yiu HL, Szeto ML, Leung SK. Endosonographic surveillance of small gastrointestinal tumors originating from muscularis propria. *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 177-180 [PMID: 19565047]
- 40 American Gastroenterological Association Institute. American Gastroenterological Association Institute medical position statement on the management of gastric subepithelial masses. *Gastroenterology* 2006; 130: 2215-2216 [PMID: 16762643 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.032]
- 41 Hwang JH, Rulyak SD, Kimmey MB. American Gastroenterological Association Institute technical review on the management of gastric subepithelial masses. *Gastroenterology* 2006; 130: 2217-2228 [PMID: 16762644 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.033]
- 42 ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7: vii49-vii55 [PMID: 22997454 DOI: 10.1093/annonc/mds252]
- 43 Sato T, Peiper M, Fritscher-Ravens A, Gocht A, Soehendra N, Knoefel WT. Strategy of treatment of submucosal gastric tumors. *Eur J Med Res* 2005; 10: 292-295 [PMID: 16055400]
- 44 Gill KR, Camellini L, Conigliaro R, Sassatelli R, Azzolini F, Messerotti A, Woodward TA, Wallace MB, Jamil LH, Raimondo M. The natural history of upper gastrointestinal subepithelial tumors: a multicenter endoscopic ultrasound survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 723-726 [PMID: 19238092 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818a8457]
- 45 Bruno M, Carucci P, Repici A, Pellicano R, Mezzabotta L, Goss M, Magnolia MR, Saracco GM, Rizzetto M, De Angelis C. The natural history of gastrointestinal subepithelial tumors arising from muscularis propria: an endoscopic ultrasound survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 821-825 [PMID: 19349904 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818f50b8]
- 46 Kim GH. Endoscopic resection of subepithelial tumors. *Clin Endosc* 2012; 45: 240-244 [PMID: 22977810 DOI: 10.5946/ce.2012.45.3.240]
- 47 Chak A, Canto MI, Rösch T, Dittler HJ, Hawes RH, Tio TL, Lightdale CJ, Boyce HW, Scheiman J, Carpenter SL, Van Dam J, Kochman ML, Sivak MV. Endosonographic differentiation of benign and malignant stromal cell tumors. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 468-473 [PMID: 9199902 DOI: 10.1016/S0016-5107(97)70175-5]
- 48 Rösch T, Kapfer B, Will U, Baronius W, Strobel M, Lorenz R, Ulm K. Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal

- lesions: a prospective multicenter study. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 856-862 [PMID: 12190103]
- 49 Nickl N. Hypoechoic intramural tumor study: final report [Abstract]. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: AB98
- 50 Ando N, Goto H, Niwa Y, Hirooka Y, Ohmiya N,

Nagasaka T, Hayakawa T. The diagnosis of GI stromal tumors with EUS-guided fine needle aspiration with immunohistochemical analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 37-43 [PMID: 11756912 DOI: 10.1067/mge.2002.120323]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

3 版权

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

慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达

索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩

索静宇, 张旭, 郑倩, 安徽医科大学 安徽省合肥市 230001
徐华, 毕淑英, 中国人民解放军空军总医院儿科 北京市 100142

索静宇, 安徽医科大学2011级硕士研究生, 主要从事小儿消化方向的研究。

作者贡献分布: 此课题由索静宇、徐华及毕淑英设计; 研究过程由索静宇操作完成; 研究所用动物及分析工具由张旭与郑倩提供; 数据分析由索静宇完成; 本论文写作由索静宇与徐华完成。

通讯作者: 徐华, 教授, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院儿科. doctorxuhua@yahoo.cn
电话: 010-66928283

收稿日期: 2013-07-18 修回日期: 2013-08-13

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation

Jing-Yu Suo, Hua Xu, Shu-Ying Bi, Xu Zhang, Qian Zheng

Jing-Yu Suo, Xu Zhang, Qian Zheng, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Hua Xu, Shu-Ying Bi, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, Beijing 100142, China

Correspondence to: Hua Xu, Professor, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. doctorxuhua@yahoo.cn

Received: 2013-07-18 Revised: 2013-08-13

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of 5-hydroxytryptamine 3 (5-HT₃) receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation (STC), and to explore its role in the pathogenesis of STC.

METHODS: Twenty-four healthy Wistar rats were divided into either an experimental group or a control group. The experimental group was daily administered with diphenoxylate (8 mg/kg) for 90 days to induce STC, while the control group was fed equal volume of normal saline. The number and weight of fecal granules and the body weight of rats were recorded every 5 days. An activated charcoal suspension pushing

test was performed one week after the administration of diphenoxylate to assess whether STC was successfully induced. RT-PCR was used to detect the expression of 5-HT₃ receptor in the stomach, small intestine and colon of rats.

RESULTS: By comparing the number of fecal granule, the mean weight of each fecal granule and the discharge time of the first granule of black feces between the experimental group and control group, we could judge that STC was successfully induced. 5-HT₃ receptor could be specifically amplified by RT-PCR. The expression of 5-HT₃ receptor in the stomach, small intestine and colon was significantly lower in rats with STC than in control rats (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of 5-HT₃ receptor is decreased in the stomach, small intestine and colon of rats with STC, which may contribute to the pathogenesis of STC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Slow transit constipation; 5-hydroxytryptamine 3 receptor; RT-PCR; Gastrointestinal tract

Suo JY, Xu H, Bi SY, Zhang X, Zheng Q. Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2815-2819 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2815.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2815>

摘要

目的: 研究5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)₃受体在慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠胃肠黏膜的表达, 探讨其在慢传输型便秘中的发病机制。

方法: 将24只健康Wistar大鼠随机分为实验组及对照组, 实验组予以复方苯乙哌啶混悬液[8 mg/(kg·d)]灌胃建立慢传输便秘模型, 对照组予以等剂量的生理盐水灌胃。每5 d记录1次大便粒数、大便干质量及大鼠体质量。饲养

■背景资料

目前, 慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)已成为儿童慢性便秘的常见类型, 严重地影响了儿童的身心健康, 但目前临床治疗尚不能取得满意的疗效。因此, 深入研究STC的病理生理机制已成为当前的主要问题。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■研发前沿

目前对于STC的研究已发现与多种因素有关,如胃肠道激素、Cajal细胞、*c-kit*基因等。STC与胃肠神经递质的关系已受到广泛的关注,5-HT信号系统通过与特异性受体结合,参与胃肠道运动、分泌和内脏感知调节。

90 d后停药1 wk,判断模型是否成功。采用实时荧光聚合酶链反应法(Real-time PCR, RT-PCR)检测5-HT₃受体在慢传输型便秘模型大鼠胃、小肠及结肠的表达。

结果:通过比较实验组及对照组的日均粪便粒数、平均每粒粪便质量及首粒黑便排出时间可判断造模成功。RT-PCR能特异性扩增5-HT₃受体,5-HT₃受体在慢传输型便秘大鼠胃、小肠、结肠组织中的表达均低于正常对照组(0.744 ± 0.065 , $P < 0.05$; 0.294 ± 0.044 , $P < 0.001$; 0.16 ± 0.027 , $P < 0.001$)。

结论:慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜存在5-HT₃受体表达下调,其可能与STC发病机制有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:慢传输型便秘; 5-HT₃受体; RT-PCR; 胃肠黏膜

核心提示:本研究通过人工喂养后的大鼠成功建立慢传输型便秘模型,针对与结肠传输功能有关的神经递质与受体进行研究,通过RT-PCR方法发现5-HT₃受体在慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠胃肠黏膜中表达下调,提示STC大鼠胃肠道中5-HT₃受体的减少可能为慢传输型便秘的重要病理生理机制。

索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩. 慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2815-2819 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2815.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2815>

0 引言

慢性便秘是小儿消化系统疾病中的常见症状,发生率约3%-5%^[1,2]根据文献报道^[3],小儿便秘可分为:慢传输型、出口梗阻型、混合型及结肠传输时间正常型4种类型。结合儿童结肠的发育特点,以慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)最为多见。STC由多种因素引起,是指结肠运动功能低下导致粪便传输减慢所引起的便秘,表现为排便次数减少、便意减弱、甚至消失并伴有腹胀^[4,5]。目前其发病机制尚不明确,其与胃肠神经递质的关系已受到了广泛的关注。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是肠神经系统的重要介质^[6,7],研究表明5-HT及其受体与胃肠道疾病密切相关。其中,5-HT₃受体被认为是调节胃肠道动力的重要因子。以往对于5-HT₃R与STC关系的研究多以蛋白表达为主,尚无基因层

面论证。本文采用实时荧光PCR(Real-time PCR, RT-PCR)方法从基因水平探讨5-HT₃R在STC大鼠胃肠黏膜的表达,从而为其病理生理机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级健康♂8周龄Wistar大鼠24只,体质量 $120 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,生产许可证号SCXK-(军)2007-004,随机分为实验组和对照组($n = 12$)。所有大鼠均分笼饲养,饲养于中国人民解放军304医院动物实验室。预饲养1 wk以适应环境(室温 20°C - 22°C ,相对湿度50%-70%,清洁安静)。所有大鼠均以普通干饲料喂养(由北京华阜康生物科技股份有限公司提供)。复方苯乙哌啶(合肥久联制药有限公司),生理盐水(湖南康源制药有限公司),活性炭(国药集团化学试剂有限公司); TRNzol-A+Reagent、RNase-free ddH₂O、FastQuant cDNA第一链合成试剂盒、SuPerReal PreMix Plus均购自TIANGEN公司,PCR引物和内对照 β -actin均由SANGON公司合成(表1)。离心机(德国Heraeus公司),紫外分光光度计(UV-2201日本岛津公司),PCR扩增仪(中国SLAN公司)。

1.2 方法

1.2.1 慢传输型便秘大鼠的模型建立:参照陈飞波的方法建立慢传输型便秘大鼠模型^[8]。24只大鼠随机分为实验组和对照组,每组12只,且体质量及性别无明显差异。大鼠分笼饲养,实验组大鼠每日以复方苯乙哌啶灌胃(8 mg/kg),对照组灌以等量生理盐水。每5 d记录1次大鼠粪便粒数、粪便干重及大鼠体质量。饲养90 d后处死大鼠,取其胃窦、小肠、结肠肌肉组织各 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$,储存于液氮中备用。通过首粒黑便排出时间判断模型建立是否成功。

1.2.2 肠道传输功能测定:采用活性炭灌胃法测定首粒黑便排出时间。停药1 wk后的大鼠禁食24 h(不禁水),经口灌入100 g/L活性炭悬液2 mL。从灌胃完毕开始计时,记录从灌胃到首粒黑便排出时间。

1.2.3 组织总RNA提取:组织块(约40 mg)加入TRNzol-A+1 mL,用匀浆器进行匀浆处理后置于Eppendorf管, 15°C - 30°C 放置5 min,使核蛋白复合物完全分离。 4°C 12000 r/min离心10 min,取上清,于上清液中加入氯仿200 mL,剧烈震荡15 s,室温放置3 min。 4°C 13000 r/min离

■相关报道

国外Deponti等报道5-HT可加快胃肠道运动及提高内脏痛觉的敏感性;国内丁建华等实验显示STC患者结肠中5-HT₃受体较对照组明显减少。

表 1 RT-PCR所用引物序列及片段大小

目的基因	引物序列	片段大小(bp)
5-HT3R	上游5'-CGCCTGTAGCCTTGACATCTAT-3'	160
	下游5'-CGACCTCACTTCTTCTGGTGTT-3'	
β -actin	上游5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	下游5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

5-HT3R: 5-羟色胺3受体.

表 2 两组大鼠粪便粒数、粪便质量及首粒黑便排出时间 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	粪便粒数(粒/d)	粪便质量 (mg/粒)	首粒黑便排出时间(min)
实验组	24.04 \pm 1.52	147.73 \pm 6.94	970.00 \pm 15.28
对照组	34.56 \pm 2.74	131.60 \pm 9.83	402.86 \pm 22.33
P值	<0.01	<0.05	<0.01

心10 min后, 样品会分为3层, RNA主要存在于上层无色的水相中. 将水相移至新的离心管内, 加入等体积的异丙醇, 混匀, 室温放置25 min. 随后4 $^{\circ}\text{C}$ 13000 r/min离心10 min, 去上清后可在管侧或管底见到胶状沉淀, 即为RNA沉淀. 加入1 mL 750 mL/L乙醇洗涤沉淀, 再4 $^{\circ}\text{C}$ 5000 r/min离心3 min, 倒出液体, 室温干燥2 min, 加入50 μL RNase-free ddH₂O, 反复吹打、混匀以充分溶解RNA. 将已提取好的RNA用紫外分光光度仪检测其纯度: 取10 μL 样品加入390 μL RNase-free ddH₂O稀释, 充分混匀, 测其 A_{260} 与 A_{280} 数值, 每个样品重复3次, 取均值. $A_{260/280}$ 介于1.8-2.1提示RNA纯度较好. 余样品置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用.

1.2.4 逆转录合成cDNA: 严格按照FastQuant cDNA第一链合成试剂盒说明书操作, 将已提取的RNA逆转录成cDNA, 建立20 μL 的反应体系.

1.2.5 引物设计及合成: 通过PubMed数据库寻找相关引物, 采用Primer5.0软件进行分析并挑选出最为合适的引物.

1.2.6 PCR扩增: 严格按照SuPerReal PreMix Plus试剂盒说明书操作, 建立20 μL 的反应体系, 通过PCR扩增仪进行扩增, 每组样品重复3次. PCR反应条件(三步法): 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性15 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸32 s, 共40个循环. PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳分析. 电脑记录其融解曲线并记录每个样品的Ct值, 通过相对定量法比较两组间5-羟色胺3受体的表达.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析, 数据以mean \pm SD表示并进行方差分析

和 t 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠慢传输型便秘模型建立成功 实验组大鼠日均粪便粒数明显少于对照组($P < 0.01$)、平均每粒粪便质量大于对照组($P < 0.05$); 实验组大鼠首粒黑便排出时间明显长于对照组($P < 0.01$), 说明实验组大鼠肠道传输时间延长, 表明造模成功(表2).

2.2 5-HT3受体mRNA表达水平 5-HT3受体和内参的RT-PCR产物融解曲线均为单一峰, 未发现非特异性扩增和引物二聚体产生, 其目的基因扩增曲线形态良好(图1). 5-HT3受体在慢传输型便秘胃、小肠、结肠组织的相对表达量($2^{-\Delta\Delta C_t}$)分别为 0.744 ± 0.065 、 0.294 ± 0.044 、 0.16 ± 0.027 , 均低于正常对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表3).

2.3 电泳结果 5-HT3受体和 β -actin扩增产物经电泳后, 结果显示扩增片段大小与设计的大小完全一致. 2%琼脂糖凝胶电泳显示PCR产物为单一条带(图2), 表明RT-PCR能特异性扩增5-HT3受体, 结果可靠.

3 讨论

5-HT作为重要的单胺类神经递质, 广泛地存在于中枢及外周组织中, 其中95%来源于胃肠道, 且主要存在于肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC). 5-HT可通过与特异性受体结合, 从而参与胃肠道运动、分泌和内脏感知调节^[9,10]. 5-HT

■创新盘点

本实验首次采用RT-PCR技术从基因层面探讨5-HT3受体在STC中的表达, 并发现其在STC大鼠胃肠黏膜中表达下调, 提示5-HT3受体可能参与了STC的发生.

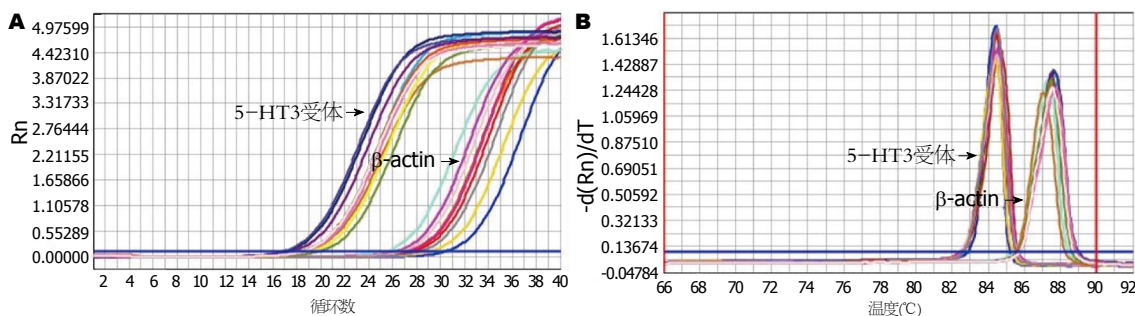
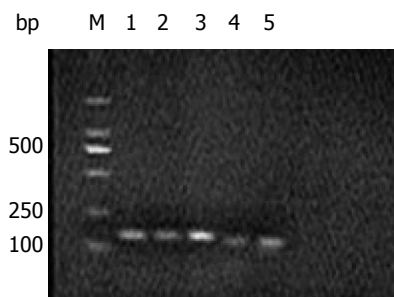
■应用要点

本文通过研究STC大鼠5-HT₃受体的表达水平,可为STC发生的病理生理机制提供理论依据,同时也可为临床选择性用药提供新思路。

表 3 慢传输型便秘大鼠胃、小肠、结肠组织中5-HT₃受体表达水平

	实验组			对照组		
	胃	小肠	结肠	胃	小肠	结肠
5-HT ₃ 受体相对表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	0.74 ± 0.065	0.29 ± 0.044	0.16 ± 0.027	1	1	1
t值	-6.826	-28.061	-54.8			
P值	<0.05	<0.001	<0.001			

5-HT₃: 5-羟色胺₃。

图 1 5-HT₃受体mRNA实时荧光定量扩增曲线和融解曲线. A: 实时荧光定量扩增曲线; B: 融解曲线。图 2 大鼠胃肠黏膜5-HT₃受体及β-actin mRNA表达电泳图. M: DNA marker; 1和2为实验组5-HT₃受体; 3: 对照组5-HT₃受体; 4: 实验组β-actin; 5: 对照组β-actin。

受体是目前已知的神经递质受体家族中最为庞大的个体,有7种类型,15个亚型。其中5-HT₁、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄、5-HT₇主要分布于胃肠道,其功能各异^[11]。De Ponti等^[12]报道5-HT可使胃肠道运动加快,并提高内脏痛觉的敏感性。

5-HT受体参与胃肠动力和内分泌的调控,通过激活5-HT₃受体可增强胃肠道收缩力、促进肠的分泌,从而加快胃肠道的传输速度,缩短肠内容物通过胃肠道的时间^[13]。5-HT₃受体是胃肠道5-HT受体中较为重要的类型^[14],可传递肠至脑的信息,介导胃结肠反射^[15],肠固有神经也可通过5-HT₃受体促进胃肠动力及肠分泌。因此,5-HT₃受体既介导肠感觉的传递,又参与胃肠动力的产生^[6,16]。近年来脑-肠轴的研究已成为慢传

输型便秘机制的研究重点^[17,18],而5-HT及5-HT₃受体作为重要的神经递质在此研究中发挥重要的作用。目前,关于5-HT₃受体在STC胃肠黏膜中的表达仅见蛋白水平,基因表达的研究尚鲜有报道。丁建华等^[16]通过免疫组织化学法证实STC患者结肠中5-HT₃受体阳性染色较对照组明显减少、强度降低。本次研究显示,5-HT₃受体在大鼠胃、小肠、结肠黏膜的表达较对照组明显降低,提示慢传输型便秘胃肠道存在5-HT₃受体的表达下调。因此,5-HT₃受体的表达下调一方面影响了肠感觉向脑的传递,使便意减少;另一方面又使胃肠动力减弱,减慢了胃肠道的传输,减少了肠的分泌,从而诱导便秘产生。

慢传输型便秘自1986年首次提出以来,便发现STC是以结肠传输减慢和对纤维素、缓泻剂治疗反应差为主要特点^[19]。本次实验中5-HT₃受体在胃黏膜中的下调没有小肠及结肠明显,且小肠下调趋势亦低于结肠。此实验结果考虑与STC本身的特点有关,且与5-HT₃受体于肠道内分布多于胃内有关。以往研究认为部分STC患者的发病与胃动力异常有关^[20],Madrid等^[21]通过放射学检查证实了STC患者也存在小肠动力障碍。我们的研究表明STC大鼠全胃肠5-HT₃受体表达下调,可能存在全胃肠动力异常,并且以肠动力障碍为著。

总之,慢传输型便秘大鼠胃肠道中5-HT₃受

体的表达明显低于对照组, 提示可能为慢传输型便秘的重要病理生理机制。

4 参考文献

- 1 Benninga M, Candy DC, Catto-Smith AG, Clayden G, Loening-Baucke V, Di Lorenzo C, Nurko S, Staiano A. The Paris Consensus on Childhood Constipation Terminology (PACCT) Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 273-275 [PMID: 15735478 DOI: 10.1097/01.MPG.0000158071.24327.88]
- 2 Hyman PE, Milla PJ, Benninga MA, Davidson GP, Fleisher DF, Taminiau J. Childhood functional gastrointestinal disorders: neonate/toddler. *Gastroenterology* 2006; 130: 1519-1526 [PMID: 16678565 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.065]
- 3 Shahid S, Ramzan Z, Maurer AH, Parkman HP, Fisher RS. Chronic idiopathic constipation: more than a simple colonic transit disorder. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 150-154 [PMID: 22011587 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.065]
- 4 Dinning PG, Di Lorenzo C. Colonic dysmotility in constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 89-101 [PMID: 21382581 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.006]
- 5 Gray JR. What is chronic constipation? Definition and diagnosis. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 7B-10B [PMID: 22114751]
- 6 Sikander A, Rana SV, Prasad KK. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. *Clin Chim Acta* 2009; 403: 47-55 [PMID: 19361459 DOI: 10.1016/j.cca.2009.01.028]
- 7 Tonini M, Pace F. Drugs acting on serotonin receptors for the treatment of functional GI disorders. *Dig Dis* 2006; 24: 59-69 [PMID: 16699264 DOI: 10.1159/000090309]
- 8 陈飞波, 包云光, 舒小莉, 顾伟忠, 赵婵, 姚敏华, 欧弼悠, 江米足. 一氧化氮在慢传输型便秘大鼠中的作用及中药治疗评估. *临床儿科杂志* 2009; 27: 580-584
- 9 Kim YS, Choi SC, Park JM, Choi CH, Lee DH, Son HJ, Sung IK, Jeong JJ, Lee JS, Shim KN, Lee KJ, Hong SJ, Choi MG. The effect of tegaserod on symptoms and quality of life in Korean women with irritable bowel syndrome with constipation. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 61-70 [PMID: 20535328 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.1.61]
- 10 Camilleri M. Serotonin in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 53-59 [PMID: 19115522 DOI: 10.1097/MED.0b013e32831e9c8e]
- 11 Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 7: 3-14 [PMID: 15521849 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02180.x]
- 12 De Ponti F, Tonini M. Irritable bowel syndrome: new agents targeting serotonin receptor subtypes. *Drugs* 2001; 61: 317-332 [PMID: 11293643 DOI: 10.2165/00003495-200161030-00001]
- 13 雷云霞, 蔡淦. 5羟色胺在肠易激综合征中的作用. *中国中西医结合消化杂志* 2005; 13: 410-413
- 14 Tong W, Kamiyama Y, Ridolfi TJ, Zietlow A, Zheng J, Kosinski L, Ludwig K, Takahashi T. The role of 5-HT3 and 5-HT4 receptors in the adaptive mechanism of colonic transit following the parasympathetic denervation in rats. *J Surg Res* 2011; 171: 510-516 [PMID: 20691988 DOI: 10.1016/j.jss]
- 15 林震群, 张维波, 周文博. 痛泻要方颗粒对腹泻型肠易激综合征的结肠黏膜5-HT3受体表达的影响. *福建中医药* 2011; 42: 14-16
- 16 丁健华, 赵荣华, 傅传刚, 毕丽霞, 孟荣贵, 喻德洪. 慢传输型便秘患者结肠中5羟色胺受体亚型的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3111-3115
- 17 Devanarayana NM, Rajindrajith S. Association between constipation and stressful life events in a cohort of Sri Lankan children and adolescents. *J Trop Pediatr* 2010; 56: 144-148 [PMID: 19696192 DOI: 10.1093/tropej/fmp077]
- 18 Bassotti G, Villanacci V. Slow transit constipation: a functional disorder becomes an enteric neuropathy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4609-4613 [PMID: 16937428]
- 19 Bharucha AE, Phillips SF. Slow transit constipation. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 77-95 [PMID: 11394038 DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70168-0]
- 20 邹颖, 郑学宝. 慢传输型便秘发病机制研究进展. *现代实用医学* 2007; 19: 416-418
- 21 Madrid AM, Defilippi C. [Disturbances of small intestinal motility in patients with chronic constipation]. *Rev Med Chil* 2006; 134: 181-186 [PMID: 16554925]

同行评价

本文课题设计合理, 方法科学, 课题数据说明一定问题, 值得进一步研究。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立

王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩

■背景资料

胰腺癌的发病率在全球范围内呈逐年上升趋势, 大部分患者在确诊时已失去了接受根治性手术的机会, 迫切需要我们探索发现新的生物标志物预测胰腺癌治疗效果和预后生存, 并且为胰腺癌治疗提供一个新的分子靶点。

王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩, 东南大学附属中大医院肿瘤中心 江苏省南京市 210009

王钟晗, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2011604

作者贡献分布: 王钟晗与王彩莲对此文所作贡献均等; 本课题由王钟晗、王彩莲、陈蓉、周旻及陈岩设计; 研究过程由王钟晗与王彩莲操作完成; 本论文写作由王钟晗与王彩莲完成。

通讯作者: 王彩莲, 主任医师, 博士生导师, 210009, 江苏省南京市鼓楼区丁家桥87号, 东南大学附属中大医院肿瘤中心。

wangcailian65@hotmail.com

电话: 025-83272338

收稿日期: 2013-05-25 修回日期: 2013-08-05

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and their stable transfection of PANC-1 cell line

Zhong-Han Wang, Cai-Lian Wang, Rong Chen, Min Zhou, Yan Chen

Zhong-Han Wang, Cai-Lian Wang, Rong Chen, Min Zhou, Yan Chen, Department of Oncology, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2011604

Correspondence to: Cai-Lian Wang, Chief Physician, Department of Oncology, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, 87 Dingjiaqiao District, Gulou District, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. wangcailian65@hotmail.com

Received: 2013-05-25 Revised: 2013-08-05

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To construct plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and to obtain a PANC-1 cell line stably transfected with the most efficient constructed plasmid.

METHODS: Three plasmids carrying shRNAs (shRNA-1, shRNA-2, shRNA-3) targeting the *ETS1* gene were constructed, and the most efficient one was identified by Western blot and then transfected into PANC-1 cell line. The stably transfected cell line was selected in the presence of G418. The expression of the *ETS1* protein

was detected by Western blot.

RESULTS: The plasmids carrying shRNAs were successfully constructed. The plasmid carrying shRNA-1 had the highest efficiency. The expression of *ETS1* protein in the stably transfected cell line was efficiently knocked down.

CONCLUSION: Plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and the stably transfected PANC-1 cell line have been successfully constructed.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; *ETS1* transcription factor; RNAi; Stable transfection; PANC-1

Wang ZH, Wang CL, Chen R, Zhou M, Chen Y. Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and their stable transfection of PANC-1 cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2820-2825
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2820.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2820>

摘要

目的: 构建针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 鉴定并建立干扰质粒稳定转染的人胰腺癌PANC-1细胞株。

方法: 分别构建3条针对*ETS1*基因的shRNA干扰质粒(shRNA-1, shRNA-2, shRNA-3), 并将其转染至人胰腺癌PANC-1细胞株, 用药物G418筛选出稳定细胞株, Western blot鉴定稳定转染细胞株中*ETS1*表达量。

结果: 3条针对*ETS1*基因的shRNA干扰质粒转染胰腺癌PANC-1细胞株后, Western blot检测结果显示干扰质粒1(shRNA-1)具有最佳干扰效果。将具有最佳干扰效果的质粒稳定转染人胰腺癌PANC-1细胞株后, 经Western blot鉴定相较于对照组稳定细胞株其*ETS1*表达量明显降低。

■同行评议者

刘亮, 副主任医师, 复旦大学胰腺癌研究所; 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

结论: 成功构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 并建立其稳定转染的人胰腺癌PANC-1细胞株。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺癌; ETS1转录因子; RNA干扰; 稳定转染; PANC-1

核心提示: 近年来, 国内外针对ETS1和胰腺癌之间的相关性研究逐渐引起关注, 因此我们设计构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 并将其转染至胰腺癌PANC-1细胞株, 因为稳定转染的细胞株相较于瞬时转染的细胞株具有生物学特性稳定等一系列优点。

王钟喆, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩. 转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2820-2825 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2820.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2820>

0 引言

近年来, 胰腺癌的发病率在全球范围内呈逐年上升趋势, 但其发生发展的机制尚未完全阐明。研究显示, 转录因子ETS(v-ets鸟类骨髓成红细胞增多症病毒E26致癌基因)家族中的ETS1的异常表达和多种恶性肿瘤的发生、发展及预后密切相关, 如乳腺癌、肺癌、白血病^[1-3]。目前已有文献报道, ETS1在不同的胰腺癌组织中表达不同, 分化低且预后较差的胰腺癌组织中ETS1表达量相比于分化高且预后较好的胰腺癌组织明显升高^[4]。因此, 我们构建出针对ETS1 mRNA的干扰质粒, 并转染人胰腺癌PANC-1细胞, 筛选出稳定转染的细胞株, 以进一步研究转录因子ETS1在胰腺癌的发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株PANC-1购自中科院上海细胞库, shRNA干扰质粒由上海吉凯公司构建并测序, DMEM培养基购自Wisent公司, 胎牛血清购自美国Gibco公司, Lipo-fectamine 2000购自Invitrogen公司, G418购自Sigma公司, PVDF膜购自Roche公司, WB Immobilon ECL发光液购自Millipore公司, 抗-ETS1抗体购自ABCAM公司, 抗-GAPDH抗体购自Bioworld公司, HPR标记的二抗购自Multisciences公司, 其余试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: PANC-1细胞培养于含50 mL/L

胎牛血清的DMEM培养基中, 并置于含50 mL/L CO₂, 37 °C的培养箱中。细胞按1:3进行传代, 并取对数期生长细胞用于实验。

1.2.2 质粒构建: 由上海吉凯生物公司合成针对ETS1基因的干扰质粒并对其进行测序。

1.2.3 细胞转染及Western blot进行有效靶点的筛选: 转染前24 h取对数期的PANC-1细胞约6 × 10⁵个接种于6孔板中, 使转染时的细胞融合度在90%左右, 转染步骤按照Invitrogen的Lipo-fectamine 2000说明书严格操作, 取转染质粒2 μg稀释于500 μL Opti-MEM, 3 μL Lipofectamine 2000稀释于500 μL Opti-MEM, 两者混匀后静置20 min, 加入所需要转染的孔中, 3 h后加入500 μL完全培养基培养, 于转染24 h后观察荧光表达情况, 并于48 h后收集细胞并提取蛋白, 用Western blot检测目的蛋白的表达情况, 筛选出最有效的干扰靶点。

1.2.4 稳定转染细胞株的筛选: 用具有最有效干扰靶点的质粒转染细胞, 并于48 h后用含600 mg/L G418的筛选培养基进行筛选, 筛选3 wk后, 带有绿色荧光表达的阳性克隆形成, 用克隆环挑取阳性克隆细胞, 并转移至96孔板, 用二倍稀释法稀释阳性克隆细胞, 直至获得单个细胞, 并用最适培养基进行培养, 培养4 wk后, 挑选荧光强度较强的单克隆细胞进行扩大培养。

1.2.5 Western blot检测ETS1蛋白的表达: 收集足量的稳定转染的实验组及对照组细胞, 并用PBS洗2遍, 用适量的细胞裂解液进行裂解并提取蛋白, 以BCA定量的方法测得上样蛋白的浓度, 并计算相应的上样体积, 经SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、脱脂奶粉封闭, 4 °C冰箱孵育一抗(工作浓度: ETS1 1:500; GAPDH 1:5000)12 h以上, TBST洗去一抗, 10 min × 3次, 然后室温孵育HPR标记的二抗(工作浓度为1:5000)1 h, 并用ECL化学发光法进行曝光显影, 以GAPDH作为内参, 实验均重复3次。

2 结果

2.1 ETS1 shRNA真核表达质粒构建及鉴定 由上海吉凯公司合成针对ETS1的3组干扰质粒及一组对照质粒, 经测序, 质粒构建成功。将这3个干扰质粒及对照质粒转染PANC-1细胞, 并于24h后在荧光显微镜下观察质粒的转染情况(图1)。质粒所具有的GFP结构可表达绿色荧光蛋白。荧光显示转染效率皆可达到50%以上。转染48 h后提取蛋白, 并用Western blot检测ETS1的表达情况

■ 研发前沿

目前对于ETS1在胰腺癌发生发展中的作用机制尚不清楚, 但令人鼓舞的是, 近来正逐渐引起国际重视, 已有文献证实ETS1在肿瘤发生、发展和侵袭转移过程中起着重要作用。

■相关报道

ETS家族在细胞的多种生物学行为如增殖、分化、转化、侵袭和凋亡中都发挥重要作用。此外, ETS家族已经被证实与一些恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如前列腺癌、大肠癌、肺癌及乳腺癌等。

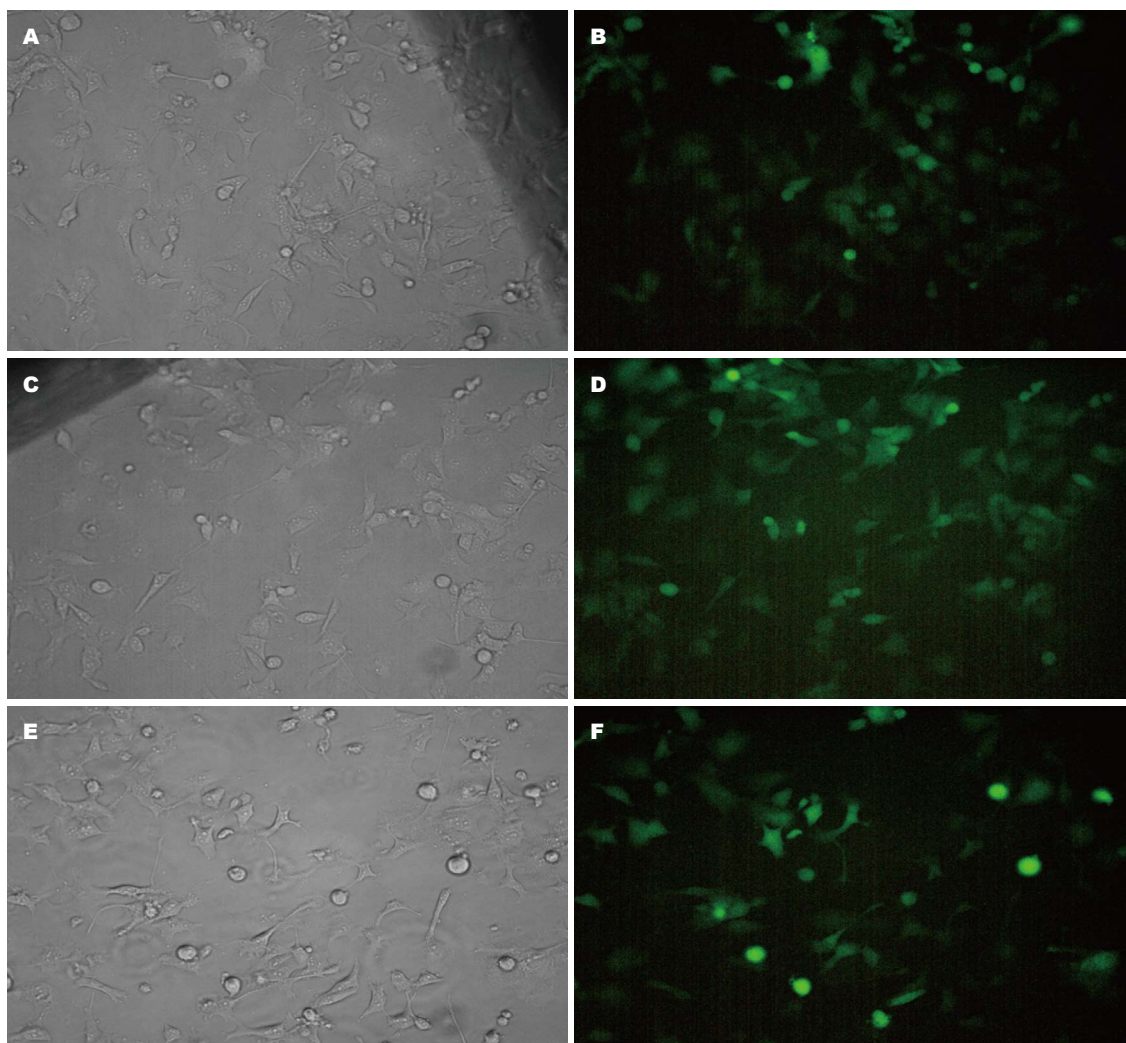


图1 荧光显微镜观察ETS1干扰质粒转染胰腺癌PANC-1细胞后荧光表达情况($\times 200$)。A, B: shRNA 1组; C, D: shRNA 2组; E, F: shRNA 3组; A, C, E: 白光; B, D, F: 荧光。

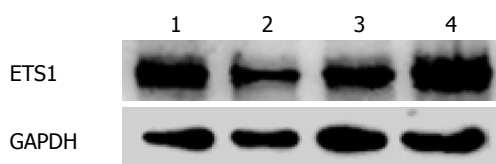


图2 Western blot检测3条干扰质粒转染细胞后ETS1蛋白表达情况。1: con-shRNA组; 2: shRNA 1组; 3: shRNA 2组; 4: shRNA 3组。GAPDH: 内参。

(图2)。干扰质粒1具有最佳的干扰效果, 后续实验皆选取此干扰质粒。

2.2 干扰质粒稳定转染PANC-1细胞及稳定株ETS1表达量的鉴定 分别将干扰质粒1及对照质粒转染PANC-1细胞, 并用G418进行筛选, 约3 wk后形成阳性克隆(图3)。挑取阳性克隆并用最适培养基进行培养, 培养4 wk后, 挑选荧光强度较强的单克隆细胞进行扩大培养。用Western blot鉴定, 所获得的干扰质粒稳定转染的细胞株

其ETS1表达水平相较于对照质粒稳定转染的细胞株明显降低(图4)。

3 讨论

ETS家族首先发现于鸟类白血病病毒E26中, 作为一类融合基因与*v-myb*基因及*gag*基因融合在一起。至今为止, 已有超过30个成员被陆续发现。ETS转录因子家族具有两个主要的功能域, 转录激活域和DNA结合域。这一家族的转录因子一个共同的特征就是具有一个独特的高度保守的DNA结合域, 又称ETS域。ETS域是由85个氨基酸构成, 可以特异性地识别具有GGAA/T核心元素的DNA序列并与之结合, 从而发挥其转录调控作用^[5,6]。ETS家族的绝大多数成员都是Ras-MAPK信号通路的核内靶基因, 因此, ETS家族在细胞的多种生物学行为如增殖、分化、转化、侵袭和凋亡中都发挥重要作用^[7]。此外, ETS家族已经

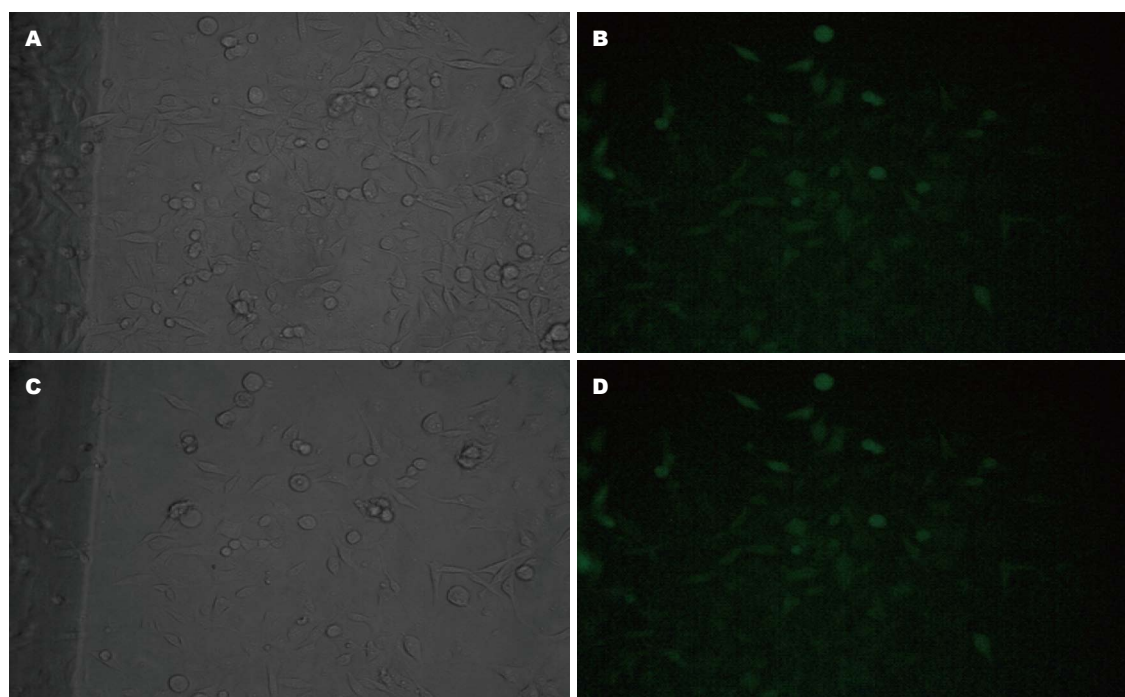


图 3 对照组及实验组经G418筛选3 wk后形成的阳性克隆在常规显微镜及荧光显微镜下观察结果($\times 200$)。A, B: shRNA 1 clone; C, D: con shRNA clone; A, C: 白光; B, D: 绿色荧光。

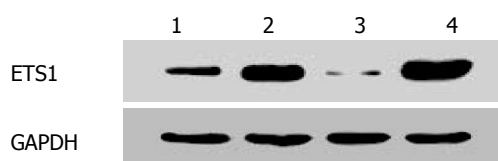


图 4 Western blot检测对照质粒和干扰质粒稳转的细胞系中ETS1表达情况。1: shRNA1 clone1; 2: control clone1; 3: shRNA1 clone2; 4: control clone2. GAPDH: 内参。

被证实与一些恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如前列腺癌、大肠癌、肺癌及乳腺癌等^[8,9]。

ETS1是转录因子ETS家族中最具代表性的成员之一, 他主要有两种蛋白形式, 一种是51 kDa分子量大小, 另一种是42 kDa分子量大小。分子量为42 kDa的ETS1蛋白相较于分子量为51 kDa的ETS1蛋白缺乏内含子VII序列, 而内含子VII上具有一个自抑性的调节序列可以调节ETS1的DNA结合性^[10,11]。除了此种自身调控机制外, ETS1的转录活性还受到磷酸化的调节。ETS1的氨基末端具有一个RAS敏感的苏氨酸38磷酸化位点, 磷酸化这些残基可以显著增强ETS1的转录活性; 而内含子VII的氨基末端具有一个钙敏感磷酸化位点, 磷酸化这些丝氨酸残基则可以显著抑制ETS1的转录活性^[12-14]。ETS1受磷酸化修饰后, 将信号传导, 从而调控一系列基因的表达水平, 包括一些其他的转录因子, 细胞周期调

控基因, 凋亡相关基因以及一些生长因子, 从而影响细胞的增殖, 凋亡及血管生成等。近年来, 一些已经被证实是恶性肿瘤细胞外基质破坏, 细胞迁移及血管形成的标志如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-1、MMP-3、MMP-9、尿激酶以及血管内皮生长因子及其受体等, 都被发现是ETS1的下游效应物^[15-19], 由此可见, ETS1在肿瘤的发生、发展及侵袭转移中都发挥重要作用。

全球范围内胰腺癌的发病率呈逐年上升趋势, 由于缺乏有效的早期诊断手段及治疗方法, 患者的预后极差, 中位生存期为3-4 mo。分子靶向治疗已经成为现在及未来肿瘤治疗的主要方法之一, 因此, 寻找胰腺癌的早期诊断的分子标志物及分子靶向治疗靶点具有重要意义^[20,21]。ETS1在胚胎发育时参与胰腺的形成, 但在正常的胰腺组织中不表达或仅轻度表达, 而胚胎发育和肿瘤发生又有着密切关系, 从而我们推测ETS1在胰腺癌的发生发展中都具有重要作用^[22]。体外研究表明, ETS1在胰腺癌组织中呈高表达, 提示ETS1可能与胰腺癌的发生密切相关^[23-25], 我们前期研究中也检测了胰腺癌组织与癌旁胰腺组织中ETS1表达, 结果表明ETS1在胰腺癌组织中明显高于癌旁胰腺组织^[26]。本课题组前期实验对ETS1的表达与急性髓性白血病患者临床预后

■创新盘点

目前已有研究通过siRNA干扰技术或腺病毒转染技术对胰腺癌细胞株内ETS1表达进行调控, 并进行进一步实验检测下游功能。本文使用的质粒转染系统有别于前两者, 具有创新性。

■应用要点

ETS1与多种细胞生物学行为有关,在胰腺癌发生发展中具有重要的作用,这些作用亟待进一步实验阐明。作者的研究结果为后续实验奠定了良好的基础。

进行了相关性分析研究,结果提示ETS1和急性髓性白血病患者的临床预后密切相关。

近年来,国内外针对ETS1和胰腺癌之间的相关性研究逐渐引起关注,因此我们设计构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒,并将其转染至胰腺癌PANC-1细胞株。由于稳定转染的细胞株相较于瞬时转染的细胞株具有生物学特性稳定等一系列优点,我们用药物G418加压筛选出稳定转染的胰腺癌PANC-1细胞株,并用Western blot反复鉴定,筛选出具有最佳敲除效果的细胞株两支,从而为进一步研究ETS1与胰腺癌发生发展之间的相关性研究奠定实验基础。

4 参考文献

- Kars MD, Işeri OD, Gündüz U. Drug resistant breast cancer cells overexpress ETS1 gene. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 458-462 [PMID: 20392592 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.008]
- Sasaki H, Yukiue H, Moiriyama S, Kobayashi Y, Nakashima Y, Kaji M, Kiriya M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Clinical significance of matrix metalloproteinase-7 and Ets-1 gene expression in patients with lung cancer. *J Surg Res* 2001; 101: 242-247 [PMID: 11735282 DOI: 10.1006/jsre.2001.6279]
- Dreyfus F, Picard F, Gisselbrecht S, Varet B, Tambourin PE, Fichelson S. ets-1 and ets-2 proto-oncogene expression in human leukemia cells and cell lines. *Nouv Rev Fr Hematol* 1989; 31: 217-221 [PMID: 2694094]
- Ito T, Nakayama T, Ito M, Naito S, Kanematsu T, Sekine I. Expression of the ets-1 proto-oncogene in human pancreatic carcinoma. *Mod Pathol* 1998; 11: 209-215 [PMID: 9504693]
- Dittmer J. The biology of the Ets1 proto-oncogene. *Mol Cancer* 2003; 2: 29 [PMID: 12971829]
- Garrett-Sinha LA. Review of Ets1 structure, function, and roles in immunity. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 3375-3390 [PMID: 23288305]
- Oikawa T, Yamada T. Molecular biology of the Ets family of transcription factors. *Gene* 2003; 303: 11-34 [PMID: 12559563 DOI: 10.1016/S0378-1119(02)01156-3]
- Shaikh Ibrahim Z, Wernert N. ETS transcription factors and prostate cancer: the role of the family prototype ETS-1 (review). *Int J Oncol* 2012; 40: 1748-1754 [PMID: 22366814 DOI: 10.3892/ijo.2012.1380]
- Nakayama T, Ito M, Ohtsuru A, Naito S, Sekine I. Expression of the ets-1 proto-oncogene in human colorectal carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14: 415-422 [PMID: 11353051 DOI: 10.1038/modpathol.3880328]
- Lulli V, Romania P, Riccioni R, Boe A, Lo-Coco F, Testa U, Marzali G. Transcriptional silencing of the ETS1 oncogene contributes to human granulocytic differentiation. *Haematologica* 2010; 95: 1633-1641 [PMID: 20435626 DOI: 10.3324/haematol.2010.023267]
- Choul-Li S, Leroy C, Lepruvier G, Laitem C, Tulasne D, Aumercier M. Caspase cleavage of Ets-1 p51 generates fragments with transcriptional dominant-negative function. *Biochem J* 2010; 426: 229-241 [PMID: 20001963 DOI: 10.1042/BJ20090877]
- Gardner KH, Montminy M. Can you hear me now? Regulating transcriptional activators by phosphorylation. *Sci STKE* 2005; 2005: pe44 [PMID: 16160121 DOI: 10.1126/stke.3012005pe44]
- Liu H, Grundström T. Calcium regulation of GM-CSF by calmodulin-dependent kinase II phosphorylation of Ets1. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4497-4507 [PMID: 12475968 DOI: 10.1091/mbc.E02-03-0149]
- Cowley DO, Graves BJ. Phosphorylation represses Ets-1 DNA binding by reinforcing autoinhibition. *Genes Dev* 2000; 14: 366-376 [PMID: 10673508]
- Park YH, Jung HH, Ahn JS, Im YH. Ets-1 up-regulates HER2-induced MMP-1 expression in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377: 389-394 [PMID: 18851945 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.09.135]
- Lefter LP, Dima S, Sunamura M, Furukawa T, Sato Y, Abe M, Chivu M, Popescu I, Horii A. Transcriptional silencing of ETS-1 efficiently suppresses angiogenesis of pancreatic cancer. *Cancer Gene Ther* 2009; 16: 137-148 [PMID: 18772901 DOI: 10.1038/cgt.2008.65]
- Naito T, Tanihata Y, Nishimura H, Tanaka T, Higuchi C, Taguchi T, Sanaka T. Expression of matrix metalloproteinase-9 associated with ets-1 proto-oncogene in rat tubulointerstitial cells. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2333-2348 [PMID: 16046515]
- Sahin A, Velten M, Pietsch T, Knuefermann P, Okuducu AF, Hahne JC, Wernert N. Inactivation of Ets 1 transcription factor by a specific decoy strategy reduces rat C6 glioma cell proliferation and mmp-9 expression. *Int J Mol Med* 2005; 15: 771-776 [PMID: 15806297]
- Kato T, Fujita Y, Nakane K, Kojima T, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417: 966-971 [PMID: 22206665 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.12.047]
- Campbell PJ, Yachida S, Mudie LJ, Stephens PJ, Pleasance ED, Stebbings LA, Morsberger LA, Latimer C, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela L, Nik-Zainal SA, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Griffin CA, Burton J, Swerdlow H, Quail MA, Stratton MR, Iacobuzio-Donahue C, Futreal PA. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer. *Nature* 2010; 467: 1109-1113 [PMID: 20981101 DOI: 10.1038/nature09460]
- Haug U, Wente MN, Seiler CM, Jesenofsky R, Brenner H. Stool testing for the early detection of pancreatic cancer: rationale and current evidence. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8: 753-759 [PMID: 18999925 DOI: 10.1586/14737159.8.6.753]
- 张健, 高福祿, 刘芝华. Ets转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1624-1627
- Khanna A, Mahalingam K, Chakrabarti D, Periyasamy G. Ets-1 expression and gemcitabine chemoresistance in pancreatic cancer cells. *Cell Mol Biol Lett* 2011; 16: 101-113 [PMID: 21225469 DOI: 10.2478/s11658-010-0043-z]
- Li YY, Wu Y, Tsuneyama K, Baba T, Mukaida N. Essential contribution of Ets-1 to constitutive Pim-3 expression in human pancreatic cancer cells. *Cancer Sci* 2009; 100: 396-404 [PMID: 19154409 DOI: 10.1002/cncr.24009]

- 10.1111/j.1349-7006.2008.01059.x]
- 25 Ito H, Duxbury M, Benoit E, Clancy TE, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Prostaglandin E2 enhances pancreatic cancer invasiveness through an Ets-1-dependent induction of matrix metalloproteinase-2.

- 26 *Cancer Res* 2004; 64: 7439-7446 [PMID: 15492268 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1177]
- 王彩莲, 王文闻. ETS-1、p-53、VEGF、HER-2、COX-2在胰腺癌中的表达. *江苏医药* 2012; 38: 2393-2395

■同行评价

本文的研究结果为后续实验奠定了良好的基础, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊.

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法. 定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种. 参加核心期刊评审的学科专家达8200多位. 经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊.

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录. 在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部).

胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰

■背景资料

恶性腹水是临床工作的难点与挑战, 18.3%的恶性腹水与胃癌相关, 有必要研究胃癌恶性腹水临床病理特征与预后关系, 指导临床治疗。

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰, 江西省肿瘤医院江西省南昌市 330029

张慧卿, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤的临床诊疗与基础研究。

作者贡献分布: 张慧卿与谢梅对此文为主要贡献; 何波、芦珊、万以叶及宋荣峰辅助此文完成; 此课题由张慧卿与何波设计; 研究过程由张慧卿与谢梅合作完成; 数据分析由芦珊与万以叶操作完成; 本论文写作由张慧卿与谢梅完成。

通讯作者: 张慧卿, 主治医师, 330029, 江西省南昌市北京东路519号, 江西省肿瘤医院内科。hgzhang888@sina.com

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-07-31

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases

Hui-Qing Zhang, Mei Xie, Bo He, Shan Lu, Yi-Ye Wan, Rong-Feng Song

Hui-Qing Zhang, Mei Xie, Bo He, Shan Lu, Yi-Ye Wan, Rong-Feng Song, Jiangxi Provincial Tumor Hospital, Nanchang 330029, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hui-Qing Zhang, Attending Physician, Department of Medical Oncology (Division III), Jiangxi Provincial Tumor Hospital, 519 Beijing East Road, Nanchang 330029, Jiangxi Province, China. hgzhang888@sina.com.

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-07-31

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To analyze the clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites.

METHODS: Clinicopathological data for 223 gastric cancer patients with malignant ascites treated at the Jiangxi Provincial Tumor Hospital between January 2008 and December 2012 were retrospectively analyzed. Survival analysis was conducted using Kaplan-Meier method. Factors influencing survival were analyzed using univariate (Log-rank) and multivariate (Cox) models.

RESULTS: A total of 223 patients (95 females and 128 males, median age, 52 years) were included, accounting for 6.2% of all gastric cancer cases treated at our hospital during the same

period. Among them, 50 (22.4%) were young, 38 (17.0%) were senile, 122 (54.7%) underwent curative gastric resection or cytoreductive surgery, 97 (43.5%) presented with malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer, and 148 (66.4%) received systematic and/or intraperitoneal chemotherapy. Proximal gastric cancer was diagnosed in 22 cases (9.9%) and whole stomach cancer in 12 cases (5.4%). Approximately 79.4% (177/223) of cases were diagnosed with poorly differentiated adenocarcinoma or undifferentiated adenocarcinoma. After a median follow-up period of 9.7 months, it was found that the median survival following diagnosis of malignant ascites was 4.9 months, and the overall one-year survival rate was 12.6%. Univariate analysis revealed that ECOG score, presence of malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer, history of gastric cancer surgery, total bilirubin level, presence of metastasis in other site(s), and chemotherapy were significant factors affecting the survival (all $P < 0.05$). Multivariate analysis showed that ECOG score ($P = 0.01$), presence of malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer ($P = 0.001$), presence of metastasis in other site(s) ($P = 0.002$) and chemotherapy ($P < 0.001$) were independent prognostic factors.

CONCLUSION: The survival of gastric cancer patients with malignant ascites is relatively short. Worse ECOG score, presence of malignant ascites at the initial diagnosis and presence of metastasis in other site(s) are associated with poor prognosis in gastric cancer patients with malignant ascites, and the survival time could be prolonged by systematic and intraperitoneal chemotherapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Malignant ascites; survival; Prognosis; Chemotherapy

Zhang HQ, Xie M, He B, Lu S, Wan YY, Song RF. Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

■同行评议者
张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院

2013; 21(27): 2826-2831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2826>

摘要

目的: 探讨胃腺癌恶性腹水的临床病理特征和预后因素。

方法: 回顾性研究2008-01/2012-12收治的223例胃腺癌恶性腹水患者临床的资料, 采用Kaplan-Meier法进行生存分析, 预后因素的单因素分析采用Log-rank检验, 多因素分析采用Cox回归模型。

结果: 223例患者, 占我院同期收治胃癌病例的6.2%(223/3612), 中位年龄52岁(20-81岁), 青年胃癌50例(22.4%), 老年胃癌38例(17.0%)。近端胃癌22例(9.9%), 全胃癌12例(5.4%)。177例(79.4%)患者病理分化程度为低分化腺癌或未分化腺癌。97例(43.5%)患者在诊断胃癌时即有腹水, 122例(54.7%)患者有胃癌手术史, 148例(66.4%)患者接受了化疗。无一例其他疾病导致的死亡, 中位总生存期4.9 mo, 1年生存率12.6%(28/223)。单因素分析显示: ECOG评分、以腹水起病, 胃癌手术史、胆红素水平、合并其他部位转移以及是否接受化疗是影响患者预后的因素(均 $P<0.05$)。多因素分析显示, ECOG评分, 以腹水起病, 接受化疗, 合并其他部位转移是影响患者预后的独立因素(均 $P<0.05$)。

结论: 以腹水起病、行为评分差和合并其他部位转移的胃癌恶性腹水患者预后较差, 进行腹腔化疗和全身化疗能延长患者的生存时间。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 恶性腹水; 总生存期; 预后; 化学治疗

核心提示: 本组胃癌恶性腹水患者的中位生存时间为4.9 mo, 体力状况评分、以腹水起病和合并其他部位转移是独立的预后因素, 进行全身化疗和腹腔化疗能延长患者的生命。

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰. 胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2826-2831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2826>

0 引言

恶性腹水, 指肿瘤细胞播散种植至腹膜, 导致腹

膜腔内过多液体聚积^[1], 约占所有腹水病例的10%^[2]。诊断恶性腹水的金标准是腹水中找见脱落肿瘤细胞, 他常被视为肿瘤的终末期, 中位生存时间5.7 mo, 生活质量明显下降^[3-5]。据报道, 18.3%的恶性腹水与胃癌有关, 预后比卵巢癌和乳腺癌更差^[4]。因此, 有必要了解胃癌恶性腹水特征与预后的关系, 从而针对不同个体选择恰当的治疗方案, 实现“个体化”治疗, 达到尽量延长生存和避免过度治疗的目的。我们回顾性研究了本院2008-01/2012-12确诊为胃腺癌恶性腹水患者的临床资料, 探讨了胃癌恶性腹水临床特征与预后的关系, 现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-12确诊为胃腺癌恶性腹水的患者223例, 临床资料入组标准: (1)外科手术或电子胃镜活检获取病理组织, 确诊为胃腺癌; (2)恶性腹水定义: 排除肝硬化、结核性腹膜炎等良性疾病的基础上, 腹水中找见脱落的肿瘤细胞^[3]。其中男性128例(57.4%), 女性95例(42.6%), 男女之比1.3:1。发病年龄20-81岁, 中位年龄52岁, 青年胃癌50例(22.4%), 老年胃癌38例(17.0%)。

1.2 方法

1.2.1 患者进入我院恶性腹水的临床诊疗路径: 腹腔穿刺引流、呋塞米和螺内酯利尿以及基于顺铂的腹腔灌注化疗和全身化疗, 共148例。拒绝化疗的患者给予引流腹水和利尿等最佳支持治疗, 共75例。

1.2.2 研究方法: 收集患者基本特征(性别、年龄、ECOG评分、是否以腹水起病、胃癌手术史), 实验室检查(胆红素、白蛋白、原发灶位置、病理类型、HER-2状态、其他部位转移), 治疗方法(化疗与否、化疗周期)等临床病理资料。

1.2.3 随访: 通过门诊复查、电话或信件等进行随访, 获得总生存期。生存期计算方法: 腹水中找见脱落肿瘤细胞至死亡时间或末次随访时间(2013-05-02)。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析, Kaplan-Meier法计算生存率, 并绘制生存曲线; Log-rank检验进行预后影响因素的单因素分析, Cox回归模型分析多因素对生存时间的影响, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌恶性腹水患者的临床病理特征 入

■ 研发前沿

胃癌恶性腹水患者中位生存期短, 生活质量差, 如何实现“个体化”治疗是临床亟待解决的问题。

■相关报道

2007年,英国Ayantunde等研究发现恶性腹水患者的中位生存时间为5.7 mo,其中肿瘤来源与类型、肝转移和血清白蛋白是独立的预后因子。

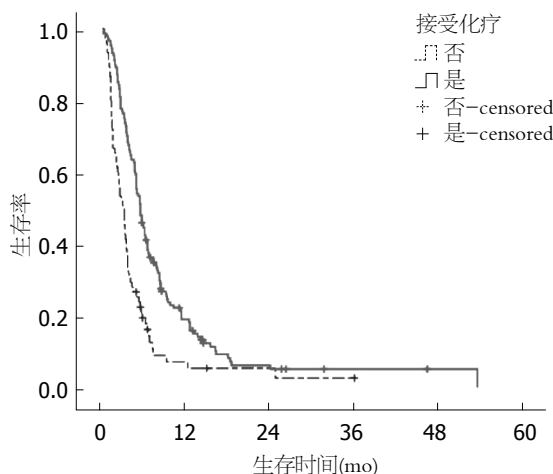


图1 接受与未接受化疗胃癌恶性腹水患者生存曲线。

组223例患者,占我院同期胃癌病例的6.2%(223/3612)。97例(43.5%)患者在诊断胃癌时即有腹水。141例(63.2%)患者表现出腹水相关的临床症状,分别为腹胀(49.3%)、腹痛(44.4%)、恶心(26.9%)和乏力(21.5%)。近端胃癌22例(9.9%),全胃癌12例(5.4%)。177例(79.4%)患者的病理类型为低分化腺癌或未分化腺癌。153例患者接受了表皮生长因子受体2(epidermal growth factor receptor 2, HER-2)检测,其中32例(20.9%)阳性。诊断恶性腹水中位白蛋白为37.0 g/L(14.0-66.0 g/L),中位总胆红素11.0 $\mu\text{mol/L}$ (3.5-266.0 $\mu\text{mol/L}$),中位CEA为2.4 ng/mL(0.01-29250.0 ng/mL),中位CA125为70.2 U/mL(0.3-12304.0 U/mL)。最常见的并发转移部位为淋巴结(45.3%)、卵巢(24.7%)和肝脏(19.7%)。35例(15.7%)患者合并肠梗阻。148例患者(66.4%)接受了化疗,中位全身化疗2周期(1-11周期),中位腹腔灌注化疗3次(1-9次)。

2.2 生存情况 无1例其他疾病导致患者死亡。223例患者中位总生存期4.9 mo(0.3-53.4 mo),平均生存时间7.9 mo \pm 0.8 mo,1年生存率12.6%(28/223)。截止随访结束有21例患者存活。

2.3 预后影响因素分析 Kaplan-Meier法单因素分析显示, ECOG评分、以腹水起病、胃癌手术史、胆红素、其他部位转移的数目以及接受化疗是影响患者预后的因素($P < 0.05$)(表1,图1)。对接受化疗的患者进行亚组分析显示,全身化疗组、腹腔化疗组和联合化疗组的中位总生存时间分别为5.2、3.5和7.5 mo($P < 0.01$)。通过Cox回归模型分析得出: ECOG评分、以腹水起病、接受化疗和其他部位转移的数目是影响患者预后

的独立因素,贡献最大的是接受化疗和以腹水起病(表2)。

3 讨论

恶性腹水患者生活质量和预后较差,是临床姑息治疗的难题。恶性腹水的治疗一直缺乏高级别研究的证据,学术界尚未达成治疗共识^[6,7]。深入研究恶性腹水的病理生理机制,充分利用现有的治疗手段,有望改善患者的生存^[8]。

胃癌作为世界范围内的第二癌症杀手,是导致恶性腹水的常见病因^[4,9]。目前,有关恶性腹水预后因素的研究较少,大多囊括了所有肿瘤,而且距今已有数年时间^[4,10]。肖隆斌等^[11]比较了经手术治疗的合并与未合并腹水的胃癌患者临床特征,分析出盆腔结节、腹膜侵犯及脏器侵犯是胃癌发生腹水的最危险因素,但对胃癌恶性腹水患者的预后影响因素进行分析。

与既往报道有所不同^[4],本研究恶性腹水的定义为腹水中找见脱落肿瘤细胞。我们入组了胃癌恶性腹水患者223例,占同期胃癌病例的6.2%。患者中位生存期4.9 mo,比2007年英国报道的3 mo更长,分析可能得益于胃癌化疗药物的进步,以及对患者进行了腹腔穿刺引流、利尿、腹腔灌注化疗和全身化疗的综合治疗^[4]。43.5%的患者在诊断胃癌时即有腹水,略低于其他研究的49.0%-54.0%,分析与本研究未入组卵巢癌患者有关^[4,10]。Log-rank单因素分析显示,以腹水起病的患者中位生存时间仅3.9 mo,是预后不良的独立因素($P = 0.001$)。既往无胃癌手术史的患者,生存时间明显更短(3.9 mo vs 5.1 mo),这与Lee等^[12]关于胃癌一线化疗预测因素的报道一致。

63.2%的患者出现腹水相关的临床症状,影响生活质量。我们的研究结果支持体力状况评分好的患者生存期更长($P = 0.003$)。白蛋白下降是患者营养不良的表现,也是恶性腹水患者预后不良的因素^[10]。本研究中白蛋白 < 35 g/L的患者中位生存期较白蛋白正常组短1 mo,但差异无统计学意义($P = 0.178$)。胆红素也是中位生存期的影响因素($P = 0.027$),分析与胆红素升高的患者大多发生肝脏转移有关。临床分期是影响患者生存的重要因素。本研究显示,伴有其他脏器转移的患者预后明显更差($P = 0.004$),而且转移部位越多,生存期越短,存在2个以上脏器转移的患者中位生存期仅为2.4 mo。

■创新盘点

本文首次提出了胃癌恶性腹水患者生存的独立预测因子。

表 1 223例胃癌恶性腹水的临床病理特征和生存分析

临床特征	<i>n</i>	mOS(mo)	95%CI	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				0.369	0.544
男	128	4.9	4.09–5.71		
女	95	4.5	3.33–5.67		
年龄(岁)				1.905	0.386
<40	50	4.3	2.91–5.69		
40–65	135	4.1	4.23–5.97		
>65	38	3.0	1.49–4.51		
胃癌手术史				4.035	0.045
有	122	5.1	4.24–5.96		
无	101	3.9	2.83–4.97		
以腹水起病				4.420	0.036
是	97	3.9	2.85–4.95		
否	126	5.1	4.09–6.11		
病灶位置				2.108	0.550
胃底贲门	22	6.4	4.45–8.35		
胃体	128	4.5	3.67–5.33		
胃窦	61	4.7	3.46–5.94		
全胃	12	3.7	2.35–5.06		
分化程度				1.559	0.212
高–中分化	46	4.5	1.56–7.44		
低–未分化	177	4.9	4.22–5.58		
ECOG评分				8.683	0.003
0–2	197	5.1	4.37–5.83		
>2	36	3.4	2.22–4.58		
其他器官转移				10.866	0.004
0	70	5.5	4.70–6.30		
1–2	140	4.2	3.45–4.95		
>2	13	2.4	1.23–3.57		
接受化疗				21.806	0.000
是	148	5.7	4.96–6.44		
否	75	3.4	2.72–4.08		
白蛋白(35 g/L)				1.818	0.178
降低	77	4.1	2.95–5.25		
正常	146	5.1	4.30–6.07		
胆红素(20 μ mol/L)				4.898	0.027
正常	183	5.1	4.27–5.93		
升高	40	3.8	2.96–5.50		
CEA(5 μ g/mL)				0.336	0.562
正常	137	5.1	4.19–6.01		
升高	86	4.3	3.31–5.29		
CA125(35 U/mL)				0.685	0.408
正常	72	5.1	3.54–6.66		
升高	151	4.8	4.02–5.58		

ECOG: 美国东部肿瘤协作组; mOS: 中位总生存时间。

一般认为, 青年胃癌是指发病年龄<40岁的胃癌, 占有胃癌的12.7%–14.8%^[13,14]。本研究青年胃癌50例, 占22.4%, 高于文献报道的14.8%, 分析与青年胃癌更易发生腹膜转移有关^[15]。据

报道, 与中年患者相比, 青年患者胃癌根治术后的预后更好, 5年生存率更高(80.0% vs 76.0%, $P<0.018$)^[14]。我们的研究提示年龄并非影响胃癌恶性腹水患者预后的因素($P=0.386$), 这与San-

■应用要点

建议对行为评分 ≤ 2 分, 其他脏器转移数目 ≤ 2 个和以腹水起病的患者给予更为积极的综合治疗。

表 2 影响胃癌恶性腹水预后的Cox模型多因素分析

因素	β	Wald值	RR	95%CI	P值
接受化疗	-0.903	31.440	0.406	0.296-0.556	<0.001
以腹水起病	0.516	11.766	1.676	1.248-2.251	0.001
ECOG评分差	0.490	6.598	1.632	1.123-2.371	0.010
并发转移器官	0.426	9.908	1.531	1.174-1.995	0.002

toro等^[16]的报道相符。

据报道, 组织分化程度是影响胃癌预后的因素, 分化级别越低, 生存时间越短。本组中79.4%的胃癌恶性腹水患者为低分化腺癌或未分化腺癌, 显著高于Chiaravalli等^[17]关于胃癌病例报道的22%; 生存分析显示, 与高分化和中分化者相比较, 低分化和未分化患者的中位生存时间无统计学差异, 提示发生腹膜转移的胃癌细胞可能具有更为特殊的生物学特征。研究表明, 血清CA125水平的高低与肿瘤细胞腹膜播散的严重程度以及恶性腹水的存在密切相关^[18]。尽管CA125和CEA异常升高不是本组胃癌恶性腹水患者生存的影响因素, 但CA125的阳性表达率达到66.7%, 明显高于CEA的表达(38.6%), 提示在诊断恶性腹水的敏感性方面, 血清CA125比CEA更具应用价值。

本组66.4%的病例接受了全身化疗和腹腔内化疗, 与未接受化疗者相比, 中位生存期明显延长(5.7 mo vs 3.4 mo), 差异有统计学意义($P<0.001$)。亚组分析显示: 全身化疗组、腹腔化疗组和联合化疗组的中位总生存时间分别为5.2、3.5和7.5 mo($P<0.01$), 提示全身化疗和腹腔化疗的联合治疗更有助于改善胃癌恶性腹水患者的生存。

通过Cox模型多因素分析得出: 接受化疗、以腹水起病, ECOG评分和其他器官转移数目是胃癌恶性腹水患者的独立预后因素, 贡献最大的是接受化疗。因此, 建议对行为评分 ≤ 2 分、其他脏器转移数目 ≤ 2 个和以腹水起病的患者给予更为积极的综合治疗, 特别是以紫杉类药物为基础的化疗, 以获得更好的治疗效果^[8]。

总之, 胃癌恶性腹水患者的预后较差, 在引流腹水与利尿的基础上, 联合腹腔灌注化疗和全身化疗能延长患者的生存时间。43.5%的胃癌患者以恶性腹水起病, 生活质量下降, 有必要依据上述独立预测因子给患者选择恰当的治疗方案, 以实现基于临床特征的个体化治疗。

4 参考文献

- Barni S, Cabiddu M, Ghilardi M, Petrelli F. A novel perspective for an orphan problem: old and new drugs for the medical management of malignant ascites. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 79: 144-153 [PMID: 20708947 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.07.016]
- Runyon BA. Care of patients with ascites. *N Engl J Med* 1994; 330: 337-342 [PMID: 8277955 DOI: 10.1056/NEJM199402033300508]
- Aslam N, Marino CR. Malignant ascites: new concepts in pathophysiology, diagnosis, and management. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2733-2737 [PMID: 11732940 DOI: 10.1001/archinte.161.22.2733]
- Ayantunde AA, Parsons SL. Pattern and prognostic factors in patients with malignant ascites: a retrospective study. *Ann Oncol* 2007; 18: 945-949 [PMID: 17298959 DOI: 10.1093/annonc/mdl499]
- Wimberger P, Gilet H, Gonschior AK, Heiss MM, Moehler M, Oskay-Oezcelik G, Al-Batran SE, Schmalfeldt B, Schmittl A, Schulze E, Parsons SL. Deterioration in quality of life (QoL) in patients with malignant ascites: results from a phase II/III study comparing paracentesis plus catumaxomab with paracentesis alone. *Ann Oncol* 2012; 23: 1979-1985 [PMID: 22734013 DOI: 10.1093/annonc/mds178]
- Becker G, Galandi D, Blum HE. Malignant ascites: systematic review and guideline for treatment. *Eur J Cancer* 2006; 42: 589-597 [PMID: 16434188 DOI: 10.1016/j.ejca.2005.11.018]
- Cavazzoni E, Bugiantella W, Graziosi L, Franceschini MS, Donini A. Malignant ascites: pathophysiology and treatment. *Int J Clin Oncol* 2013; 18: 1-9 [PMID: 22460778 DOI: 10.1007/s10147-012-0396-6]
- Imamoto H, Oba K, Sakamoto J, Iishi H, Narahara H, Yumiba T, Morimoto T, Nakamura M, Oriuchi N, Kakutani C, Morita S, Shiozaki H. Assessing clinical benefit response in the treatment of gastric malignant ascites with non-measurable lesions: a multi-center phase II trial of paclitaxel for malignant ascites secondary to advanced/recurrent gastric cancer. *Gastric Cancer* 2011; 14: 81-90 [PMID: 21327925 DOI: 10.1007/s10120-011-0016-6]
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Parsons SL, Lang MW, Steele RJ. Malignant ascites: a 2-year review from a teaching hospital. *Eur J Surg Oncol* 1996; 22: 237-239 [PMID: 8654603 DOI: 10.1016/S0748-7983(96)80009-6]
- 肖隆斌, 杨世斌, 许峰峰, 吴文辉, 黎文峰, 李明哲. 胃癌合并腹水182例临床病理特征及预后分析. 中华普

- 通外科学文献(电子版) 2012; 6: 238-242
- 12 Lee J, Lim T, Uhm JE, Park KW, Park SH, Lee SC, Park JO, Park YS, Lim HY, Sohn TS, Noh JH, Heo JS, Park CK, Kim S, Kang WK. Prognostic model to predict survival following first-line chemotherapy in patients with metastatic gastric adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2007; 18: 886-891 [PMID: 17298958 DOI: 10.1093/annonc/mdl501]
- 13 Ramos-De la Medina A, Salgado-Nesme N, Torres-Villalobos G, Medina-Franco H. Clinicopathologic characteristics of gastric cancer in a young patient population. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 240-244 [PMID: 15019915 DOI: 10.1016/j.gassur.2003.12.009]
- 14 Lai JF, Kim S, Li C, Oh SJ, Hyung WJ, Choi WH, Choi SH, Wang LB, Noh SH. Clinicopathologic characteristics and prognosis for young gastric adenocarcinoma patients after curative resection. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1464-1469 [PMID: 18340495 DOI: 10.1245/s10434-008-9809-1]
- 15 Kunisaki C, Akiyama H, Nomura M, Matsuda G, Otsuka Y, Ono HA, Takagawa R, Nagahori Y, Takahashi M, Kito F, Shimada H. Clinicopathological features of gastric carcinoma in younger and middle-aged patients: a comparative study. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1023-1032 [PMID: 16843873 DOI: 10.1016/j.gassur.2006.03.001]
- 16 Santoro R, Carboni F, Lepiane P, Ettorre GM, Santoro E. Clinicopathological features and prognosis of gastric cancer in young European adults. *Br J Surg* 2007; 94: 737-742 [PMID: 17330827 DOI: 10.1002/bjs.5600]
- 17 Chiaravalli AM, Klersy C, Vanoli A, Ferretti A, Capella C, Solcia E. Histotype-based prognostic classification of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 896-904 [PMID: 22408348 DOI: 10.3748/wjg.v18.i9.896]
- 18 Emoto S, Ishigami H, Yamashita H, Yamaguchi H, Kaisaki S, Kitayama J. Clinical significance of CA125 and CA72-4 in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer* 2012; 15: 154-161 [PMID: 21892754 DOI: 10.1007/s10120-011-0091-8]

■同行评价

本文分析了胃癌合并恶性腹水患者的临床病理特征及预后相关性,具有一定的创新,结论具有一定的临床意义,对于临床治疗胃癌恶性腹水具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性

石干, 田德安, 何星星, 廖家智

■背景资料

RhoGTPase 解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)是近年来发现的一种肿瘤转移抑制基因。在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平的变化趋势不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移。目前国内文献甚少有其在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征相关性的研究报道。

石干, 田德安, 何星星, 廖家智, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所 湖北省武汉市 430030

石干, 武汉市中心医院消化内科 湖北省武汉市 430014

石干, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家青年自然科学基金资助项目, No. 81101824

作者贡献分布: 本课题由石干与廖家智共同设计; 研究过程由石干与何星星完成; 统计数据由石干提供; 本论文写作由石干与田德安完成。

通讯作者: 廖家智, 副教授, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市硚口区解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所. shigan_shigan@sina.cn

收稿日期: 2013-05-02 修回日期: 2013-07-21

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma

Gan Shi, De-An Tian, Xing-Xing He, Jia-Zhi Liao

Gan Shi, De-An Tian, Xing-Xing He, Jia-Zhi Liao, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Gan Shi, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101824

Correspondence to: Jia-Zhi Liao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Dadao, Qiaokou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. shigan_shigan@sina.cn

Received: 2013-05-02 Revised: 2013-07-21

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To detect the expression of RhoGTPase dissociation inhibitor 2 (RhoGDI2) in gastric cancer, and to assess its correlation with clinicopathological characteristic of gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of RhoGDI2 in 103 gastric cancer specimens.

RESULTS: RhoGDI2 was expressed mainly in the cytoplasm or the nucleus. The positive rate of RhoGDI2 protein expression was significantly higher in gastric cancer than in normal gastric tissue (72.82% vs 0.00%, $\chi^2 = 38.70$, $P < 0.05$). The

expression of RhoGDI2 protein was significantly correlated with tumor differentiation, invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and stage ($\chi^2 = 6.37, 21.64, 54.50, 19.81, 24.90$, all $P < 0.05$), but not with gender, age, tumor location or size.

CONCLUSION: The expression of RhoGDI2 is closely related to the invasion and metastasis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; RhoGDI2; Immunohistochemistry; Clinicopathological characteristics

Shi G, Tian DA, He XX, Liao JZ. Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(27): 2832-2837 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2832>

摘要

目的: 检测RhoGTPase解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RHO GDI2)在胃癌患者中的表达状况, 并评价其与胃癌临床病理特征的相关性, 评估RhoGDI2在胃癌侵袭转移中的临床意义。

方法: 采用免疫组织化学技术检测103例胃癌标本中RhoGDI2的表达。

结果: RhoGDI2阳性表达细胞为肿瘤细胞, 主要位于胞浆或胞核。RhoGDI2在胃癌组织表达率为72.82%(75/103), 在非癌胃组织(病理结果显示“黏膜呈轻度慢性炎症改变”或“正常胃黏膜表现”)中无表达(0/21), 差异有统计学意义($\chi^2 = 38.70$, $P < 0.05$); 低分化型胃癌组显著高于高-中分化型胃癌组($\chi^2 = 6.37$, $P < 0.05$); 随浸润深度(分别浸润至黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层)增加, RhoGDI2的表达率增加($\chi^2 = 21.64$, $P < 0.05$); 淋巴结转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 54.50$, $P < 0.05$); 远处转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 19.81$, $P < 0.05$); 临床分期Ⅲ+Ⅳ期组明显高于Ⅰ+Ⅱ期组($\chi^2 = 24.90$,

■同行评议者

杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

$P < 0.05$). RhoGDI2表达与性别、年龄(< 60 岁或 ≥ 60 岁)、肿瘤部位(贲门胃底、胃体、胃角、胃窦)、原发灶大小(直径 < 5 cm或 ≥ 5 cm)无相关性($P > 0.05$).

结论: 在胃癌组织RhoGDI2的表达与胃癌侵袭转移病理特征密切相关. RhoGDI2可能参与调节胃癌的侵袭转移的过程.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; RhoGDI2; 免疫组织化学; 临床病理特征

核心提示: RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平均较在胃正常黏膜组织中升高, 且与临床病理特征(胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期)密切相关. 提示RhoGDI2可能有促进胃癌侵袭和转移的作用.

石干, 田德安, 何星星, 廖家智. RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2832-2837 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2832>

0 引言

胃癌是消化系最多见的恶性肿瘤, 肿瘤转移则是致使胃癌患者死亡的主要原因, 研究导致胃癌发生侵袭和转移的相关基因具有重要意义. RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)属于RhoGDI家族成员, 能使Rho家族GTP酶的活性下调, 是近年来发现的一种肿瘤转移抑制基因. 众多研究表明, 在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平的变化趋势不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移^[1]. 目前国内外文献甚少有关RhoGDI2蛋白在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征相关性的研究报道. 本研究用免疫组织化学方法检测103例胃癌组织中的RhoGDI2蛋白表达情况, 并分析其与临床病理特征的关系, 为胃癌的诊断及预后评估提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 共有103例胃癌病例入组, 均来源于2011-06/2012-06武汉同济医院的住院患者, 经消化内镜中心胃镜活检获取. 统计其性别、年

龄、肿瘤位置、原发灶直径和组织学分级等资料, 记录其住院病历诊疗资料、后续胃癌手术中所见、临床分期(肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及远处转移)并进行统计分析. 胃镜检查活检前所有患者均未行放化疗. 本研究经同济医学院伦理委员会批准, 履行告知义务并获病人知情同意. 具体入组病例临床资料分类如表1. 胃癌TNM分期采用AJCC标准(2010). 一抗兔抗人多克隆抗体RhoGDI2(#ab15198)、ElivisionTM plus试剂盒(#40405a)、DAB显色试剂盒(#AR1022)均购自武汉谷歌生物技术开发有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色检测(ElivisionTM plus): 切片脱蜡, 乙醇脱水, 水洗; 3% H_2O_2 去离子水避光孵育15 min, PBS洗涤3次 \times 5 min; 热修复抗原; 擦干边缘水分, 滴加0.3% Triton-100, 37 °C温盒孵育后PBS洗3次 \times 5 min; 滴加BSA封闭液, 室温下孵育20 min, 滴加一抗(1:200), 4 °C过夜; PBS洗3次 \times 5 min; 滴加聚合物增强剂(试剂A), 室温孵育20 min, PBS洗3次 \times 5 min; 滴加酶标羊抗鼠聚合物(试剂B), 室温孵育, PBS洗3次 \times 5 min; 新鲜配制DAB显色, 蒸馏水洗涤; 苏木素复染, 0.1%盐酸分化, PBS返蓝, 自来水冲洗; 梯度乙醇脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封片. 以已知的阳性切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照. RhoGDI2阳性细胞为棕色或黄色, 阳性颗粒均定位于细胞胞浆或细胞核.

1.2.2 免疫组织化学染色结果评定: 所有切片采用盲法由两位病理科医生独立阅片, 每个样本均选择2张切片, 采用十字分区取5个不同视野($\times 200$ 倍), 至少计数1000个细胞. 参照Remmele和Stegner提出的免疫反应积分(IRS)评分法^[2], 观察染色强度, 计数免疫组织化学标记定位准确的阳性细胞占视野内细胞数的比例并计分, 将二者计分乘积作为最后结果.

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

RhoGDI2阳性表达细胞为肿瘤细胞, 主要位于胞浆或胞核. RhoGDI2在胃癌组织表达率为72.82%(75/103), 在非癌胃组织(病理结果示“黏膜呈轻度慢性炎症改变”或“正常胃黏膜表现”)中无表达(0/21), 差异有统计学意义($\chi^2 = 38.70$, $P < 0.05$); 低分化型胃癌组显著高于高-

■ 研发前沿
借助基因芯片分析转染RhoGDI2前后胃癌细胞的差异表达基因, 从而可发现RhoGDI2在调节胃癌细胞侵袭转移过程中所牵涉的上下游基因, 并研究探讨其调控作用分子机制.

■相关报道

2009年Hee等发现, RhoGDI2在进展期胃癌组织中高表达, 在正常胃黏膜组织中低表达或不表达。他们揭示RhoGDI2能够正向调节胃癌的生长, 通过蛋白检测分析, 其胃癌组织中的蛋白表达水平比正常胃黏膜组织中更高。其研究的局限性在于样本量较小。

表 1 RhoGDI2表达与胃癌病人临床病理特征的关系

临床病例特征	n	RhoGDI2表达		阳性率(%)	χ^2 值	P值
		-	+			
性别						
男	67	16	51	76.11	1.06	>0.05
女	36	12	24	66.66		
年龄(岁)						
< 60	52	12	40	76.92	0.9	>0.05
≥60	51	16	35	68.62		
肿瘤位置						
贲门胃底	20	5	15	75	1.18	>0.05
胃体	19	7	12	63.16		
胃角	34	9	25	73.53		
胃窦	30	7	23	76.67		
原发灶直径(cm)						
< 5	47	15	32	68.1	0.98	>0.05
≥5	56	13	43	76.79		
组织学分级						
高-中分化	23	11	12	52.17	6.37	<0.05
低分化	80	17	63	78.75		
原发灶分期						
T1-2	23	15	8	34.78	21.64	<0.05
T3-4	80	13	67	83.75		
淋巴结转移						
N0	27	22	5	18.52	54.50	<0.05
N1+N2+N3	76	6	70	92.11		
远处转移						
M0	32	18	14	43.75	19.81	<0.05
M1	71	10	61	85.91		
临床分期						
I+II	47	24	23	48.94	24.90	<0.05
III+IV	56	4	52	92.86		

中分化型胃癌组($\chi^2 = 6.37, P < 0.05$); 随浸润深度(分别浸润至黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层)增加, RhoGDI2的表达率增加($\chi^2 = 21.64, P < 0.05$); 淋巴结转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 54.50, P < 0.05$); 远处转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 19.81, P < 0.05$); 临床分期III+IV期组明显高于I+II期组($\chi^2 = 24.90, P < 0.05$)。RhoGDI2表达与性别、年龄(<60岁或≥60岁)、肿瘤部位(贲门胃底、胃体、胃角、胃窦)、原发灶大小(直径<5 cm或≥5 cm)无相关性($P > 0.05$)(表1, 图1)。

3 讨论

胃癌在我国高发, 其死亡人数在我国居恶性肿瘤的首位。肿瘤侵袭转移是胃癌患者致死的主要原因。胃癌侵袭转移过程中涉及许多特殊基因, 包括促进转移的转移基因和控制转移的转

移抑制基因。有关胃癌侵袭转移的分子机制尚未完全阐明, 寻找及研究胃癌侵袭转移相关基因及其产物在胃癌侵袭转移过程中的表达变化与分子机制, 可以加深我们对于胃癌侵袭转移调控机制的理解和认识, 同时也为胃癌侵袭转移的早期诊断和靶向干预提供理论基础。

2009-04由美国弗吉尼亚大学的泌尿学与分子生理学教授Steven Christopher Smith与Dan Theodorescu博士领导研究小组系统对肿瘤转移抑制基因进行综述, 发表在Nat Rev Cancer(影响因子29.538)杂志上^[3], 揭示RhoGDI2是众多肿瘤转移抑制基因之一。并认为弄清楚肿瘤转移抑制蛋白的生物学功能可以为我们开发出更有效的疗法来为肿瘤治疗提供更多、更好的思路。RhoGDI2是肿瘤转移抑制基因其中的一种, 然而与传统意义上的肿瘤转移抑制基因不同, 近两

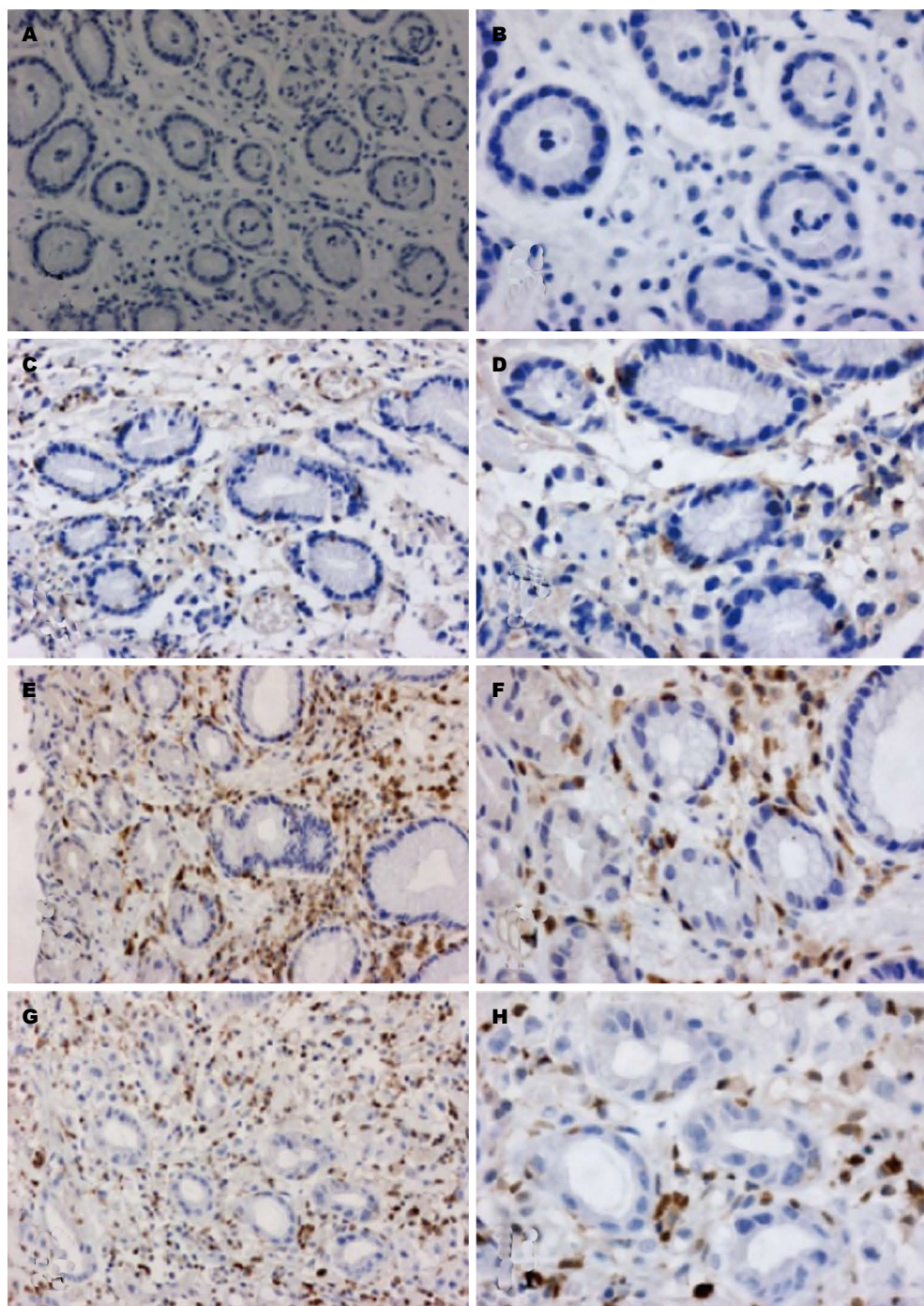


图 1 RhoGTP酶解离抑制蛋白2蛋白在胃(癌)组织的表达. A: 胃组织慢性炎症改变RhoGDI2蛋白表达阴性($\times 200$); B: 胃组织慢性炎症改变RhoGDI2蛋白表达阴性($\times 400$); C: 高分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); D: 高分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$); E: 中分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); F: 中分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$); G: 低分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); H: 低分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$).

年已有研究揭示: 在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移^[1]. 曾有报道RhoGDI2在膀胱癌^[4,5]、肺癌^[6]以及霍奇金淋巴瘤中^[7]RhoGDI2表达下调, 也有研究提示RhoGDI2在卵巢癌^[8,9]、白血病^[10]和胃癌^[11,12]等组织中表达上调.

国内外关于RhoGDI2在胃癌中的研究报道甚少. 2009年Cho等^[11]通过对26例小样本量的胃癌组织检测后发现, RhoGDI2在进展期胃癌组织中高表达, 在正常胃黏膜组织中低表达或不表达. 在实验中, 他们揭示RhoGDI2能够正向调节胃癌的生长, 通过蛋白检测分析, 其胃癌组织中的蛋白表达水平比正常胃黏膜组织中更高. 免

■创新盘点

本实验对RhoGDI2在103例胃癌组织中蛋白水平的表达进行检测, 结果表明, RhoGDI2蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平平均较在胃正常黏膜组织中升高, 且与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期密切相关, 与前人研究相比, 样本量更大.

■应用要点

对RhoGDI2蛋白下游靶蛋白的深入研究,有望成为临床上针对恶性肿瘤治疗的新方法,同时对其结构和功能的探索也将为未来治疗肿瘤药物的开发提供新的策略。

疫组织化学结果也显示RhoGDI2的表达水平在胃癌进展期增高,且与淋巴转移明显相关。在胃癌组织中的定位也与其他组织不同:RhoGDI2在其他组织中多在细胞浆中表达,偶尔在细胞核内表达^[5],而其研究表明RhoGDI2除了在细胞浆中表达外,也在细胞核内频繁表达。实验同时表明,RhoGDI2的高表达显著促进了体内胃癌的生长、侵袭及肺部转移。其研究的局限性在于样本量较小。本研究观察到RhoGDI2在胃癌细胞中的细胞核或细胞浆均有表达,样本量达103例。

恶性肿瘤的侵袭、转移是肿瘤细胞和宿主细胞相互作用的连续过程,涉及到多因素、多环节。在胃癌方面,至今鲜有关于RhoGDI2大样本量表达状况检测及与临床病理参数相关性的分析报道。本实验通过免疫组织化学方法,对RhoGDI2在103例胃癌组织中蛋白水平的表达进行检测,结果表明,RhoGDI2蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平均较在胃正常黏膜组织中升高,且与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期密切相关:组织分化程度越低、胃壁浸润越深、有淋巴结转移、远处转移及临床分期越晚的患者,RhoGDI2蛋白表达大多数都明显升高。综合以上实验结果,提示RhoGDI2可能有促进胃癌侵袭和转移的作用。最初RhoGDIs被认为具有对Rho GTP酶的负向调节作用,当被外源性转入细胞内,RhoGDIs导致了Rho依赖性细胞活动的中断^[13]。然而,最近的研究表明其也存在对Rho GTP酶的正向调节作用,RhoGDIs协助Rho GTP酶转运到细胞膜上,此举对于GTP酶与其下游效应蛋白联络至关重要。有可能RhoGDI2作为RhoGTP酶信号肽的正向调节器在胃癌细胞中发挥功能。也有可能RhoGDI2影响了其他的信号通路,Groysman等^[14]发现RhoGDI2与Vav1(Rho GTP酶鸟嘌呤核苷酸交换因子)有关联,RhoGDI2不是抵消,而是增强了Vav1的效应-在T细胞感受器活化T细胞过程中诱导NFAT生成,说明在T细胞感受器信号通路中,RhoGDI2有可能作为信号转换器发挥协同功能。最近,Schunke等^[15]也揭示RhoGDI2在乳腺癌细胞中协同Vav1对NFAT产生活化效应。

寻找肿瘤治疗靶点是目前肿瘤研究的热点。在RhoGDI2抑制肿瘤转移机理的研究上,Theodorescu等^[5]将RhoGDI2转染到高转移性膀胱癌细胞T24T,并比较转染前后T24T细胞内随之发生显著表达量降低的基因来靶定一些与

RhoGDI2的表达状况相对、具有促进肿瘤转移功能并能被药物抑制的分子。选出T24T细胞转染RhoGDI2蛋白后,转录体下调,但在人膀胱癌细胞中转录体上调的基因进行继续研究。按此思路,Titus等在膀胱癌转移细胞中重新表达RhoGDI2基因,然后对比两组数据-被RhoGDI2基因抑制的细胞转录组数据和具转移能力的侵袭性膀胱癌转移细胞转录组数据,结果发现了内皮素^[16]和神经介素U^[17]这两个RhoGDI2基因的下游靶蛋白。内皮素1和神经介素U都在促进肿瘤细胞的肺部转移过程中发挥功效。虽然目前内皮素1和神经介素U受RhoGDI2调控的机制还处于未知阶段(内皮素1的作用可以被内皮素受体抑制剂阿曲生坦所抑制;目前尚无神经介素U的抑制剂),但因其能使肿瘤细胞降低转移能力,故仍具有十分重要的临床应用价值。

总之,胃癌组织RhoGDI2的表达与肿瘤侵袭转移有关。本研究由于病例观察时间受限,我们尚未发现RhoGDI2与胃癌预后的关系,未进一步显示其内在关联,需进行进一步基础及临床随访观察研究。借助基因芯片分析转染RhoGDI2前后胃癌细胞的差异表达基因,从而发现RhoGDI2在调节胃癌细胞侵袭转移过程中所牵涉的上下游基因,并研究探讨其调控作用的分子机制。对RhoGDI2蛋白下游靶蛋白的深入研究,有望成为临床上针对恶性肿瘤治疗的新方法,同时对其结构和功能的探索也将为未来治疗肿瘤药物的开发提供新的策略。

4 参考文献

- 1 Griner EM, Theodorescu D. The faces and friends of RhoGDI2. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31: 519-528 [PMID: 22718398 DOI: 10.1007/s10555-012-9376-6]
- 2 Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-3647 [PMID: 8252480]
- 3 Smith SC, Theodorescu D. Learning therapeutic lessons from metastasis suppressor proteins. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 253-264 [PMID: 19242414 DOI: 10.1038/nrc2594]
- 4 Gildea JJ, Seraj MJ, Oxford G, Harding MA, Hampton GM, Moskaluk CA, Frierson HF, Conaway MR, Theodorescu D. RhoGDI2 is an invasion and metastasis suppressor gene in human cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 6418-6423 [PMID: 12438227]
- 5 Theodorescu D, Sapinoso LM, Conaway MR, Oxford G, Hampton GM, Frierson HF. Reduced expression of metastasis suppressor RhoGDI2 is associated with decreased survival for patients with bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3800-3806 [PMID: 15173088]
- 6 Niu H, Li H, Xu C, He P. Expression profile of RhoGDI2 in lung cancers and role of RhoGDI2 in

- lung cancer metastasis. *Oncol Rep* 2010; 24: 465-471 [PMID: 20596634]
- 7 Ma L, Xu G, Sotnikova A, Szczepanowski M, Giefing M, Krause K, Krams M, Siebert R, Jin J, Klapper W. Loss of expression of LyGDI (ARHGDIB), a rho GDP-dissociation inhibitor, in Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2007; 139: 217-223 [PMID: 17897297]
- 8 Tapper J, Kettunen E, El-Rifai W, Seppälä M, Andersson LC, Knuutila S. Changes in gene expression during progression of ovarian carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 128: 1-6 [PMID: 11454421]
- 9 Stevens EV, Banet N, Onesto C, Plachco A, Alan JK, Nikolaishvili-Feinberg N, Midkiff BR, Kuan PF, Liu J, Miller CR, Vigil D, Graves LM, Der CJ. RhoGDI2 antagonizes ovarian carcinoma growth, invasion and metastasis. *Small GTPases* 2011; 2: 202-210 [PMID: 22145092]
- 10 Cui JW, Li WH, Wang J, Li AL, Li HY, Wang HX, He K, Li W, Kang LH, Yu M, Shen BF, Wang GJ, Zhang XM. Proteomics-based identification of human acute leukemia antigens that induce humoral immune response. *Mol Cell Proteomics* 2005; 4: 1718-1724 [PMID: 16081408]
- 11 Cho HJ, Baek KE, Park SM, Kim IK, Choi YL, Cho HJ, Nam IK, Hwang EM, Park JY, Han JY, Kang SS, Kim DC, Lee WS, Lee MN, Oh GT, Kim JW, Lee CW, Yoo J. RhoGDI2 expression is associated with tumor growth and malignant progression of gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2612-2619 [PMID: 19351766 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2192]
- 12 Cho HJ, Baek KE, Kim IK, Park SM, Choi YL, Nam IK, Park SH, Im MJ, Yoo JM, Ryu KJ, Oh YT, Hong SC, Kwon OH, Kim JW, Lee CW, Yoo J. Proteomics-based strategy to delineate the molecular mechanisms of RhoGDI2-induced metastasis and drug resistance in gastric cancer. *J Proteome Res* 2012; 11: 2355-2364 [PMID: 22364609 DOI: 10.1021/pr2011186]
- 13 Takaishi K, Kikuchi A, Kuroda S, Kotani K, Sasaki T, Takai Y. Involvement of rho p21 and its inhibitory GDP/GTP exchange protein (rho GDI) in cell motility. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 72-79 [PMID: 8417362]
- 14 Groysman M, Hornstein I, Alcover A, Katzav S. Vav1 and Ly-GDI two regulators of Rho GTPases, function cooperatively as signal transducers in T cell antigen receptor-induced pathways. *J Biol Chem* 2002; 277: 50121-50130 [PMID: 12386169]
- 15 Schunke D, Span P, Ronneburg H, Dittmer A, Vetter M, Holzhausen HJ, Kantelhardt E, Krenkel S, Müller V, Sweep FC, Thomssen C, Dittmer J. Cyclooxygenase-2 is a target gene of rho GDP dissociation inhibitor beta in breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 10694-10702 [PMID: 18006811]
- 16 Titus B, Frierson HF, Conaway M, Ching K, Guise T, Chirgwin J, Hampton G, Theodorescu D. Endothelin axis is a target of the lung metastasis suppressor gene RhoGDI2. *Cancer Res* 2005; 65: 7320-7327 [PMID: 16103083]
- 17 Wu Y, McRoberts K, Berr SS, Frierson HF, Conaway M, Theodorescu D. Neuromedin U is regulated by the metastasis suppressor RhoGDI2 and is a novel promoter of tumor formation, lung metastasis and cancer cachexia. *Oncogene* 2007; 26: 765-773 [PMID: 16878152]

同行评价

本文检测了胃癌组织中肿瘤转移抑制RhoGDI2蛋白的表达情况,发现该基因与肿瘤侵袭转移有关,具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



PHB1 mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰

■背景资料

肝硬化和肝癌的发生、发展是一个多步骤演进的过程,了解肝硬化和肝癌发生、发展过程中的分子事件,阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义。抑癌蛋白(prohibitor, PHB)被认为是肿瘤抑制基因,但此观点目前存在较大争议。PHB在肝硬化和肝癌组织的mRNA表达如何,能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点,值得我们进一步研究。本研究旨在用RT-PCR方法研究PHB1在肝硬化和肝癌组织中的表达,并初步探讨PHB1与肝硬化和肝癌组织发生、发展的关系。

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

黄东风, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

江苏省卫生厅医学科研基金资助项目, No.H200330

作者贡献分布: 张弘与黄东风对此文所作贡献均等; 此课题由黄介飞、张弘、魏群及黄东风设计; 研究过程由黄东风与黄小平操作完成; 数据分析由黄东风完成; 本论文写作由黄东风与张弘完成。

通讯作者: 张弘, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科。 zhanghong19@163.com

收稿日期: 2013-04-12 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis

Dong-Feng Huang, Jie-Fei Huang, Hong Zhang, Xiao-Ping Huang, Qun Wei, Feng Li

Dong-Feng Huang, Jie-Fei Huang, Hong Zhang, Xiao-Ping Huang, Qun Wei, Feng Li, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Research Foundation of Health Department of Jiangsu Province, No. H200330

Correspondence to: Hong Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. zhanghong19@163.com

Received: 2013-04-12 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of prohibitin 1 (PHB1) mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

METHODS: RT-PCR was used to detect the expression of PHB1 mRNA in 36 specimens of hepatocellular carcinoma, cirrhosis, or normal liver tissues.

RESULTS: The positive rate of PHB1 mRNA expression showed no significant difference between hepatocellular carcinoma, cirrhosis and normal liver tissues (70%, 84.1% and 100% respectively; all $P > 0.05$). The expression level of PHB1 mRNA was significantly lower in hepatocellular carcinoma and cirrhosis than in normal liver tissues (0.81 ± 0.57 , 1.16 ± 0.58 vs 1.97 ± 1.24 ; both $P < 0.05$).

CONCLUSION: PHB1 may be involved in the development and progression of hepatocellular carcinoma and cirrhosis, and it may be used as a potential biomarker for diagnosis and target for therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: PHB1 mRNA; Hepatocellular carcinoma; Cirrhosis; RT-PCR

Huang DF, Huang JF, Zhang H, Huang XP, Wei Q, Li F. Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2838-2842 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2838.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2838>

摘要

目的: 探讨肝癌组织、肝硬化组织及正常对照组织中抑癌蛋白1(prohibitin1, PHB1)mRNA的表达及关系。

方法: 采用逆转录-聚合酶链反应方法检测36例肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝癌组织、癌旁肝硬化组织、非肝癌的肝硬化患者活检组织、肝血管瘤及肝内胆管结石等对照组织中PHB1 mRNA的表达,用捷达801分析软件对结果进行相对定量分析。

结果: 肝癌组织、肝硬化组织对照组PHB1 mRNA表达率分别为70%、84.1%、100%,表达率之间无明显统计学差异($P > 0.05$),肝癌组织、肝硬化组织和对照组PHB1 mRNA表达量分别为 0.81 ± 0.57 、 1.16 ± 0.58 、 1.97 ± 1.24 ;扩增产物表现出表达量的不同,呈现渐变趋势,肝癌组织、肝硬化组织与对照组之间明显统计学差异($P < 0.05$),HCC组织与LC组织比较无统计学差异($P > 0.05$)。

结论: PHB1参与了肝硬化、肝癌的发生发展,可能是肝硬化和肝癌潜在诊断标志物和治疗靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 肝硬化; PHB1 mRNA; RT-PCR

核心提示: 阻抑蛋白(prohibitin, *PHB*)被认为是肿瘤抑制基因, 但此观点目前存在较大争议, 目前在目前已有胃癌、肝癌、肠癌、乳癌、卵巢癌等肿瘤*PHB*表达改变的报道, 大部分肿瘤表达呈下调, 也有部分组织细胞上调的报道. 本课题组曾利用基因芯片筛选出肝硬化和肝癌组织的下调基因, *PHB*基因表达下调显著, 免疫组织化学检测*PHB*蛋白在肝硬化和肝癌组织中表达的研究, 发现肝硬化和肝癌组织中*PHB*蛋白水平上调. 其在人类肝癌细胞mRNA水平表达如何尚不明确. 本研究应用RT-PCR方法检测*PHB1*基因在肝硬化和肝癌组织中mRNA水平的表达, 发现*PHB1* mRNA在肝硬化和肝癌组织中表达下调.

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰. *PHB1* mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2838-2842 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2838.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2838>

0 引言

肝硬化(liver cirrhosis, LC)尤其是乙型肝炎后肝硬化是肝癌发生重要的一个危险因素. 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上常见、恶性程度高的肿瘤之一. HCC的发生率和死亡率分别居全球恶性肿瘤的第5位和第3位, 居我国恶性肿瘤的第3位和第2位, 我国每年约有11万人死于HCC, 约占全球HCC死亡人数的45%^[1]. HCC进展快、预后差、治疗费用高、早期不易发现. LC和HCC的发生、发展涉及众多基因改变和分子事件, 均存在增殖与凋亡失衡, 及多基因于多阶段异常表达及基因的多效性. LC和HCC的发生、发展是一个多步骤演进的过程, 了解LC和HCC发生、发展过程中的分子事件, 阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义. 阻抑蛋白(prohibitin, *PHB*)被认为是肿瘤抑制基因. *PHB*包括*PHB1*和*PHB2*. 我们曾利用基因芯片筛选出LC和HCC相关基因^[2,3], 发现LC和HCC组织中*PHB1*下调显著. *PHB*在LC和HCC组织的mRNA表达如何, 能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点, 值得我们进一步研究. 本研究旨在用RT-PCR方法研究*PHB1*在LC和HCC组织中的表达, 并初步探讨 *PHB1*与LC和HCC发生、发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-03/2006-11于南通大学附属

医院经手术切除组织或活检组织标本共36例. 取得HCC的肝组织20例(其中高分化HCC 6例, 中分化HCC 11例, 低分化HCC 3例); 远癌的LC组织11例(定义: 距肿瘤边缘 ≥ 4 cm的肝组织), 非HCC的LC患者活检组织8例, 肝血管瘤4例, 肝内胆管结石2例. 其中男性23例, 女性13例. 切下的组织立即置液氮速冻后, 于-80 °C保存备用. 所有病例均据病理学进行分类.

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成: 根据基因芯片技术筛选LC及HCC相关基因差异性表达的芯片结果, 下调基因中*PHB1*作为验证基因^[1,2]. 从GenBank查取基因序列, *PHB2*及 β -actin基因编号分别为gb: NM_002634、gb: 5016088, 以Primer 5.0软件设计*PHB1*及 β -actin的引物各1对, 再经GenBank BLAST进行同源性检测, 其序列如下: *PHB*: 5'-TGGAAGGTTTGCGGATGAGG-3'; 5'-GCAGGCATAGAGCCCGTGAG-3'. β -actin 5'-AAGTACTCCGTGTGGATCGG-3'; 5'-ATGC-TATCACCTCCCTGTG-3'. 扩增片段大小分别为483、495 bp.

1.2.2 肝组织中总RNA样品的提取(TRIZol法): 从-80 °C冰箱中取出肝细胞癌组织和正常肝组织, 解冻后每例组织称取50-100 mg置入匀浆器, 加入1 mL TRIZol, 充分匀浆后倒入1.5 mL离心管, 以下步骤按操作说明书操作. 提取后加入适量DEPC水溶解, -20 °C冰箱保存备用.

1.2.3 RT-PCR扩增: 在0.5 mL离心管中按顺序加入10 \times PCR Buffer 5 μ L, MgCl₂ 5 μ L, dNTP(10 U/ μ L)1 μ L; cDNA 1 μ L, Taq酶(1 U/ μ L)1 μ L, 上游引物1 μ L, 下游引物1 μ L, 0.1%DEPC水35 μ L. 置于PCR扩增仪上扩增. 反应条件为预变性92 °C 2 min, 变性92 °C 30 s, 退火55 °C 30 s, 延伸72 °C 30 s, 循环30次, 最后72 °C延伸5 min, 得到最终产物. 取10 μ L PCR产物及上样缓冲液(0.25 g溴酚蓝、30%甘油水溶液100 mL)1 μ L, 混匀后短暂离心, 小心加入1.5%琼脂糖凝胶中, 以120 V电压电泳约30 min后, 于320 nm紫外透射仪下观察电泳结果. 用捷达801分析软件对结果进行分析, 以各样本目的基因平均A值/ β -actin平均A值表示目的基因的相对表达强度.

统计学处理 本研究实验数据采用Stata 7.0统计软件包处理分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 率的比较采用Fisher's确切概率法, *PHB1* mRNA表达的相对定量采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为

■研究前沿

肝硬化和肝癌关系密切, 尤其是乙型肝炎后肝硬化是肝癌发生、发展最重要的一个危险因素. 因此, 探究肝硬化和肝癌发生发展过程中基因表达变化与病程的关系, 阻断肝硬化的发生、发展及早期预测癌仍为医学攻关的一个热点. *PHB*被认为是肿瘤抑制基因, 其在人类肝癌细胞表达如何尚不明确, 目前在肝硬化及肝癌组织中表达报道不多, 本实验用RT-PCR检测*PHB1* mRNA肝硬化及肝癌组织在表达情况.

■相关报道

本课题组曾利用基因芯片筛选出肝硬化和肝癌组织的下调基因, *PHB*基因表达下调显著, 免疫组织化学检测*PHB*蛋白在肝硬化和肝癌组织中表达的研究, 发现肝硬化和肝癌组织中*PHB*蛋白水平上调. 本研究应用RT-PCR方法检测*PHB1*基因在肝硬化和肝癌组织中mRNA水平的表达情况, 发现*PHB1* mRNA在肝硬化和肝癌组织中表达下调.

■创新亮点

*PHB*被认为是肿瘤抑制基因,但此观点目前存在较大争议,其mRNA在人类肝癌细胞的表达如何尚不明确.与部分肿瘤中*PHB*表达上调不同,本研究中*PHB1* mRNA在肝肝硬化及肝癌组织中表达下调.

表 1 PHB mRNA在相应组织中阳性表达率

分组	<i>n</i>	表达	不表达	阳性率(%)	<i>P</i> 值
肝癌组	20	14	6	70.00	0.280
肝硬化组	19	16	3	84.21	0.554
对照组	6	6	0	100.00	

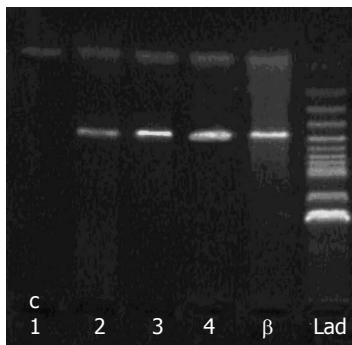


图 1 PHB mRNA的表达. 1: 肝癌组; 2: 肝硬化组; 3: 肝硬化组; 4: 对照组; β: 内参β-actin; Lad: 100 bp DNA ladder.

差异具有统计学意义.

2 结果

利用RT-PCR检测芯片结果中部分基因mRNA的表达情况,将*PHB1*(c)及内参β-actin的RT-PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳后,其条带与100 bp DNA Ladder相比较,结果表明引物有较好的特异性,且其分子量大小与预先设计的相一致.*PHB1* mRNA虽然在LC及HCC与对照组间阳性表达率无明显统计学差异(均 $P>0.05$,表1),但在LC及HCC与对照组间,扩增产物表现出表达量的不同,且呈现渐变趋势,HCC及LC与对照组间表达有一定的渐变趋势(图1).

基因*PHB1*在LC及HCC与对照组间,扩增产物表现出表达量的不同,HCC及LC与对照组间表达有一定的渐变趋势,相应目的基因的mRNA的表达水平在HCC及LC与对照组间有明显统计学差异(均 $P<0.05$)(表2,图2).

3 讨论

HCC是世界上常见、恶性程度高的肿瘤之一.HCC进展快、预后差、治疗费用高、早期不易发现.LC尤其是乙型肝炎后LC是HCC发生重要的一个危险因素.LC和HCC的发生、发展涉及众多基因改变和分子事件,均存在增殖与凋亡失衡,及多基因于多阶段异常表达及基因的多效性^[4].LC和HCC的发生、发展是一个多步骤

表 2 PHB mRNA在相应组织表达的比较

分组	<i>n</i>	mean ± SD	<i>P</i> 值
肝癌组	20	0.81 ± 0.57	0.002
肝硬化组	19	1.16 ± 0.58	0.035
对照组	6	1.97 ± 1.24	

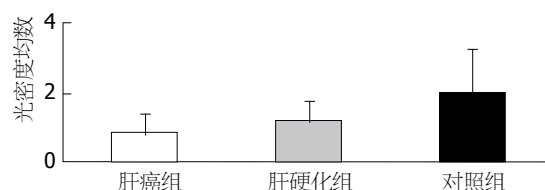


图 2 PHB1光密度均值及标准差. PHB: 阻抑蛋白.

演进的过程,了解LC和HCC发生、发展过程中的分子事件,阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义.我们曾利用基因芯片筛选出LC和HCC相关基因^[2,3],发现LC和HCC组织中*PHB1*基因下调显著.而*PHB*被认为是肿瘤抑制基因.*PHB*是一个具有抗增殖作用的基因,对细胞有抗损伤作用^[5-7].在一些癌症患者中发现存在多态性现象,该基因非翻译区C基因型编码的功能性RNA能阻滞细胞周期,因此被认为是一个候选肿瘤抑制基因,他与癌症的发生、发展以及遗传易感性的关系受到关注.*PHB*在LC和HCC组织的mRNA表达如何,能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点,值得我们进一步研究.

*PHB*基因在进化上高度保守,从低等的酵母一直到鼠、人,其氨基酸序列具有高度的同源性.*PHB*基因家族包含*PHB1*和*PHB2*,*PHB1*基因定位于染色体17q21,*PHB2*基因定位于染色体12p13.*PHB1*蛋白和*PHB2*蛋白一起能形成一种高分子量的复合物.*PHB1*与*PHB2*相互依存,同时*PHB1*表达下调,*PHB2*也出现一定程度的减少^[22].*PHB*主要存在于线粒体内膜上,发挥分子伴侣作用,少量存在于细胞核内,具有负性转录调控作用^[8].有研究显示,细胞增殖时*PHB*表达明显降低;细胞分化时*PHB*表达明显升高,抑制细胞增殖^[9].*PHB*与起始转录因子E2F结合形成一种盘曲的结构域,这种结构域本身就可以表现出生长抑制作用^[10],所以*PHB*的调控作用可能是双向的,既能阻止细胞过度增殖,又能维持细胞的生存,推测*PHB*是一个双向调节子.研究^[11]发现*PHB*和*c-Fos*均受*Rb*的调控,在*Rb*过表达的细胞中*PHB*和*c-Fos*的表达受到抑制.*PHB*和抑癌

基因产物Rb在细胞核内存在共定位关系, PHB可通过与Rb作用, 结合E2F的不同部位共同抑制基因的转录, 调节E2F的转录活性, 抑制细胞增殖^[12-14]。还有研究表明, PHB和p53蛋白可以直接相互作用结合并在核内直接参与基因的表达调控。Fusaro等和Rastogi等^[15,16]曾在乳腺癌细胞研究中发现, PHB和p53及E2F1在细胞核内具有共定位关系, 认为PHB激活了p53介导的转录并增加p53与启动子的结合能力; 在接受凋亡信号刺激后, p53-PHB发生了向核周和细胞质中转移的现象。Peng等和Rastogi等^[17-19]研究证实, PHB是维生素D主要靶基因之一, 他可能通过与维生素D受体(VDR)相互作用从而调节VDR介导的增殖抑制作用。PHB还可以通过Rb依赖性的作用增强Rb对E2F的抑制作用。现有研究证明, 在不同环境应激及DNA损伤剂诱导细胞周期停滞, 这种生长停滞与老化相似, 参与炎症、肥胖、癌症等过程。Dart等^[20]用小RNA干扰技术使PHB功能缺失可使细胞老化表型减少, 在体外实验发现异染色质蛋白(HP1 heterochromatin protein 1)家族成员HP1 β 、HP1 γ 结合牢固, HP1 γ 与PHB相互作用对E2F转录活性有较大影响, 促进E2F介导转录及诱导的凋亡。认为PHB还可与P53相互作用, 调节Rb/E2F活性, 促进凋亡。并提出PHB有诱导促进细胞老化, 抑制肿瘤生长的作用。目前已有^[21,22]胃癌、HCC、肠癌、乳癌、卵巢癌等肿瘤PHB表达改变, 大部分肿瘤表达下调的报道。

本研究中, 我们用RT-PCR方法检测了PHB1 mRNA在对照组、LC组、HCC组中的表达, 结果表明, 对照组、LC组和HCC组PHB1 mRNA表达呈逐渐下调的趋势, LC组及HCC组PHB1 mRNA表达下调逐渐明显, 可能对阻滞细胞周期进展及DNA复制有抑制作用减弱, 促进肝内细胞外基质无限沉积, HCC细胞过度增殖。Ko等^[22]在实验中使PHB1缺失, 增殖增加, 使PHB1表达增加, 则凋亡增加, 实验结果表明PHB1至少在正常肝细胞发挥肿瘤抑制作用。我们的实验结果与之一致。另外, PHB1下调也可能使PHB通过与VDR相互作用抑制VDR介导的细胞增殖作用减弱。推测PHB1在LC形成、加重及HCC的发生、发展中可能发挥了重要作用。目前对PHB在不同肿瘤中的差异表达原因尚不清楚, 可能与组织细胞学类型、分期以及PHB不同亚型及其亚细胞定位有关。有观点认为PHB的抑癌或促癌取决

于其在细胞内定的定位, 浆膜表面的促癌, 核内的PHB同时有促进细胞分化和抑制细胞增殖的作用, 因而对细胞代谢、生长、分化、衰老以及凋亡等诸多方面发挥着重要的调控作用。PHB基因既能阻滞细胞周期进展, 还对DNA复制有抑制作用。

在我们的先期研究中, PHB1基因在2例LC和2例HCC共同表达差异基因中是下调基因。推测PHB1 mRNA的表达下调使肝星状细胞及HCC细胞老化表型减少, 凋亡减少, 是其得以永生化的原因之一。PHB1在LC及HCC细胞发挥作用、作用的机制以及PHB1的表达水平是否与功能平行, 有待进一步研究。从本研究结果和已有研究可以推断PHB1可能是诊断LC和HCC有效的检测标志物和治疗LC和HCC有意义的靶点。

4 参考文献

- 1 Lau WY, Lai EC. Hepatocellular carcinoma: current management and recent advances. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 237-257 [PMID: 18522878]
- 2 张弘, 黄介飞, 黄东风, 华婷琰, 魏群. 肝细胞癌组织中肿瘤相关基因的初步筛选. *中华肝病杂志* 2009; 17: 139-140
- 3 黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄晓平, 鲍柏军, 魏群, 华婷琰. 应用基因芯片技术筛选肝硬化相关基因. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3377-3384
- 4 Zhang H, Li F, Huang J, Huang D, Hua TY, Wei Q, Zhang J, Huang H. Screening and validation of tumor-associated genes in human hepatocellular carcinoma tissues. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1048-1053 [PMID: 22281981 DOI: 10.5754/hge11894]
- 5 Theiss AL, Vijay-Kumar M, Obertone TS, Jones DP, Hansen JM, Gewirtz AT, Merlin D, Sitaraman SV. Prohibitin is a novel regulator of antioxidant response that attenuates colonic inflammation in mice. *Gastroenterology* 2009; 137: 199-208, 208. e1-e6 [PMID: 19327358 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.033]
- 6 Lee JH, Nguyen KH, Mishra S, Nyomba BL. Prohibitin is expressed in pancreatic beta-cells and protects against oxidative and proapoptotic effects of ethanol. *FEBS J* 2010; 277: 488-500 [PMID: 20030709 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07505.x]
- 7 Liu X, Ren Z, Zhan R, Wang X, Wang X, Zhang Z, Leng X, Yang Z, Qian L. Prohibitin protects against oxidative stress-induced cell injury in cultured neonatal cardiomyocyte. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 311-319 [PMID: 18958584 DOI: 10.1007/s12192-008-0086-5]
- 8 Mishra S, Murphy LC, Murphy LJ. The Prohibitins: emerging roles in diverse functions. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 353-363 [PMID: 16796804]
- 9 Nijtmans LG, Artal SM, Grivell LA, Coates PJ. The mitochondrial PHB complex: roles in mitochondrial respiratory complex assembly, ageing and degenerative disease. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 143-155 [PMID: 11852914]
- 10 Sun L, Liu L, Yang XJ, Wu Z. Akt binds prohibitin 2 and relieves its repression of MyoD and muscle

■应用要点
PHB1的表达下调可能与肝硬化、肝癌的发生、发展有关, 有可能成为肝癌的诊断标志物, 靶向治疗的靶点, 有助于改善肝癌患者的预后。

■同行评价

本文通过比较肝癌组织、肝硬化组织和正常肝组织中PHB mRNA表达水平的差异,探讨PHB在肝脏疾病中的作用。PHB和肝癌的发生发展的关系已得到大量的实验证据。本文的价值在于提供了临床证据。

- differentiation. *J Cell Sci* 2004; 117: 3021-3029 [PMID: 15173318]
- 11 Buchmann AM, Swaminathan S, Thimmapaya B. Regulation of cellular genes in a chromosomal context by the retinoblastoma tumor suppressor protein. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 4565-4576 [PMID: 9671466]
- 12 Wang S, Fusaro G, Padmanabhan J, Chellappan SP. Prohibitin co-localizes with Rb in the nucleus and recruits N-CoR and HDAC1 for transcriptional repression. *Oncogene* 2002; 21: 8388-8396 [PMID: 12466959]
- 13 Fusaro G, Wang S, Chellappan S. Differential regulation of Rb family proteins and prohibitin during camptothecin-induced apoptosis. *Oncogene* 2002; 21: 4539-4548 [PMID: 12085232]
- 14 Wang S, Zhang B, Faller DV. Prohibitin requires Brg-1 and Brm for the repression of E2F and cell growth. *EMBO J* 2002; 21: 3019-3028 [PMID: 12065415]
- 15 Fusaro G, Dasgupta P, Rastogi S, Joshi B, Chellappan S. Prohibitin induces the transcriptional activity of p53 and is exported from the nucleus upon apoptotic signaling. *J Biol Chem* 2003; 278: 47853-47861 [PMID: 14500729]
- 16 Rastogi S, Joshi B, Fusaro G, Chellappan S. Camptothecin induces nuclear export of prohibitin preferentially in transformed cells through a CRM-1-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2006; 281: 2951-2959 [PMID: 16319068]
- 17 Peng X, Mehta R, Wang S, Chellappan S, Mehta RG. Prohibitin is a novel target gene of vitamin D involved in its antiproliferative action in breast cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 7361-7369 [PMID: 16849588]
- 18 Peng X, Mehta RG. Differential expression of prohibitin is correlated with dual action of Vitamin D as a proliferative and antiproliferative hormone in breast epithelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 446-450 [PMID: 17207617]
- 19 Rastogi S, Joshi B, Dasgupta P, Morris M, Wright K, Chellappan S. Prohibitin facilitates cellular senescence by recruiting specific corepressors to inhibit E2F target genes. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 4161-4171 [PMID: 16705168]
- 20 Dart DA, Spencer-Dene B, Gamble SC, Waxman J, Bevan CL. Manipulating prohibitin levels provides evidence for an in vivo role in androgen regulation of prostate tumours. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16: 1157-1169 [PMID: 19635783 DOI: 10.1677/ERC-09-0028]
- 21 Liu T, Tang H, Lang Y, Liu M, Li X. MicroRNA-27a functions as an oncogene in gastric adenocarcinoma by targeting prohibitin. *Cancer Lett* 2009; 273: 233-242 [PMID: 18789835 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.08.003]
- 22 Ko KS, Tomasi ML, Iglesias-Ara A, French BA, French SW, Ramani K, Lozano JJ, Oh P, He L, Stiles BL, Li TW, Yang H, Martínez-Chantar ML, Mato JM, Lu SC. Liver-specific deletion of prohibitin 1 results in spontaneous liver injury, fibrosis, and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology* 2010; 52: 2096-2108 [PMID: 20890892 DOI: 10.1002/hep.23919]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 张英辉, 李孟森

何二霞, 海南省农垦总医院肿瘤内科 海南省海口市 570311
聂忠仕, 林海锋, 王琳, 张英辉, 海南省农垦总医院放射科 海南省海口市 570311
朱明月, 李孟森, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室 海南医学院 海南省海口市 571199
何二霞, 主治医师, 主要从事肝癌诊治研究工作.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, 31060164
教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0124
教育部重点科技基金资助项目, No. 211146
海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038
海南省自然科学基金资助项目, Nos. 309034, 310044
海南省卫生厅科研基金资助项目, No. 琼卫2011-71
作者贡献分布: 何二霞负责临床研究设计及临床样本收集; 聂忠仕负责肝癌的CT灌注扫描; 林海锋、王琳及张英辉负责肝癌的TACE治疗; 朱明月负责统计数据分析; 李孟森负责项目的总体设计、临床研究实施和协调、论文数据的整理与论文撰写、审校.
通讯作者: 李孟森, 教授, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院.
mengsenli@163.com
电话: 0898-66895322
收稿日期: 2013-05-28 修回日期: 2013-08-22
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases

Er-Xia He, Zhong-Shi Nie, Ming-Yue Zhu, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Ying-Hui Zhang, Meng-Sen Li

Er-Xia He, Department of Tumor Internal Medicine, Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China
Zhong-Shi Nie, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Ying-Hui Zhang, Department of Radioactive Medicine, Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China
Ming-Yue Zhu, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention; Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360307, 81260306, 81160261 and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; the Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; the Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science Foundation of Hainan Province, Nos. 309034 and 310044; Department of Health of Hainan Province Research Fund Supported Project, No. 2011-71
Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Pro-

vincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com
Received: 2013-05-28 Revised: 2013-08-22
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To observe the correlation between computed tomography (CT) perfusion parameters and survival in patients who had middle/advanced stage liver cancer after transarterial chemoembolization (TACE).

METHODS: Forty-one patients who had middle/advanced stage liver cancer were selected to observe CT perfusion parameters four weeks after TACE. Hepatic blood flow (HBF), hepatic blood volume (HBV), mean transit time (MTT), hepatic artery fraction (HAF) and perfunctory transit (PT) were measured. The patients were followed for 1-2 years after TACE.

RESULTS: The blood flow disappeared in iodized oil deposited hepatoma regions in all the patients. HBF, HBV and MTT in non-iodized oil deposited hepatoma regions were significantly higher than those in normal liver tissue [451.67 mL/(100 g•min) ± 121.45 mL/(100 g•min) vs 88.43 mL/(100 g•min) ± 12.31 mL/(100 g•min), 31.61 mL/100 g ± 5.86 mL/100 g vs 12.15 mL/100 g ± 1.97 mL/100 g, 4.01 s ± 2.11 s vs 9.13 s ± 1.89 s, all $P < 0.05$]. HAF and PT showed no significant differences between non-iodized oil deposited liver cancer region and normal liver tissue [18.745 mL/(100 g•min) ± 13.669 mL/(100g•min) vs 20.114 mL/(100 g•min) ± 14.613 mL/(100 g•min), 0.451% ± 0.121% vs 0.395% ± 0.211%, both $P > 0.05$]. HBF, HBV, HAF and PT declined significantly in 19 dead patients compared to 22 surviving patients (all $P < 0.05$), but MTT showed no significant correlation with survival.

CONCLUSION: CT perfusion imaging has important value in predict the prognosis of liver

■背景资料

经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)是临床上用于治疗中晚期肝癌的重要方法,而CT各灌注参数的分析能判断TACE治疗的药物分布状况和效果,本文采用前瞻性研究方法对确诊为中晚期肝癌患者进行TACE治疗,并于治疗后行64排螺旋CT灌注成像,依据所得灌注参数决定后续治疗的方案,并随访患者1-2年的生存期,以评估CT各灌注参数对临床治疗的指导价值及其与生存期的相关性,应用CT灌注成像预测患者的生存期.

■同行评议者

党双锁,教授,西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■ 研发前沿

TACE是治疗中晚期肝癌的重要手段,但是如何判断TACE治疗过程的药物分布以及可能效果,目前报道较少。所以采用CT灌注成像参数观察TACE治疗时碘油的渗透情况,可以预测药物渗入肝癌组织,根据药物分布能判断可能治疗效果,所以在TACE治疗前采用CT造影扫描,分析CT灌注成像参数,从而判断TACE治疗效果是需要开展的研究问题。

cancer after TACE. CT perfusion parameters may be used to evaluate survival of patients with middle/advanced stage liver cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Middle/advanced hepatocellular cancer; Transarterial chemoembolization; Computer tomography perfusion imaging; Survival

He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Zhang YH, Li MS. Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2843-2848 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2843.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2843>

摘要

目的: 探讨中晚期肝癌经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)后观察CT灌注参数与生存期之间的相关性。

方法: 41例中晚期肝癌患者TACE术后4 wk行CT灌注扫描,计算肝血流量(hepatic blood flow, HBF)、肝血容量(hepatic blood volume, HBV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)、肝动脉分数(hepatic artery fraction, HAF)及表面通透性(perfunctory transit, PT)等参数,术后随访患者1-2年的生存期。

结果: 41例中晚期肝癌患者TACE术后各灌注参数显示碘油沉积区域肝癌组织血流灌注消失;非碘油沉积区域HBF、HBV及MTT等参数分别为 $451.67 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 121.45 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 、 $31.61 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 5.86 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 和 $4.01 \text{ s} \pm 2.11 \text{ s}$,相对应的正常肝组织则分别为 $88.43 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 12.31 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 、 $12.15 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 1.97 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 和 $9.13 \text{ s} \pm 1.89 \text{ s}$,在肝癌组织和正常肝组织这些参数比较有明显差异,均有统计学意义($P < 0.05$);PT及HAF的肝癌组织值分别为 $18.745 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 13.669 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 和 $0.451\% \pm 0.121\%$,相对应的正常肝组织值为 $20.114 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 14.613 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 和 $0.395\% \pm 0.211\%$,在肝癌组织和正常肝组织这些参数比较无显著性差异($P > 0.05$);19例死亡患者非碘油沉积区域HBF、HBV、HAF及PT等灌注参数明显降低,经Speraman相关分析显示这些参数降低与生存期密切相关,和生存者比较有统计学差异($P < 0.05$),而MTT灌注参数与生存期无明显相关性($P > 0.05$)。

结论: CT灌注成像对中晚期肝癌行TACE治疗的预后判断具有重要的临床指导价值;各灌注参数与患者生存期密切相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中晚期肝癌; 经导管动脉化疗栓塞术; CT灌注成像; 生存期

核心提示: 经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗中晚期肝癌是临床上重要的治疗手段,但是如何评价TACE的治疗价值以及判断经TACE治疗后患者的生存时间,还没有明确的指标。本文通过CT灌注成像对中晚期肝癌行TACE治疗的预后判断,观察CT灌注参数与生存期之间的相关性,临床观察发现CT灌注参数能预期TACE治疗效果和患者的生存期。

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海峰, 王琳, 张英辉, 李孟森. 中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(27): 2843-2848 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2843.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2843>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,是高死亡率的重大疾病^[1,2]。由于其发生有很强的隐蔽性,因而发现时多数已经进入中晚期,中晚期HCC有肿瘤体积大、常规药物难以到达肿瘤内部组织的特点,所以临床上对中晚期肝癌首选的治疗方法是经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)^[3-5],为了及时了解TACE的治疗效果,本文拟采用前瞻性研究方法对确诊为中晚期肝癌患者进行TACE治疗,并于治疗4 wk后行64排螺旋CT灌注成像,依据所得灌注参数决定后续治疗的方案,并随访患者1-2年的生存期,以评估CT各灌注参数对临床治疗的指导价值及其与生存期的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-01/2012-08海南省农垦总医院肿瘤内科共有41例符合实验条件的肝癌患者行TACE治疗并于治疗4 wk后行CT灌注成像,其中男性29例,女性12例,年龄36-75岁,中位年龄58岁,所有患者均按照2001版“原发性肝癌的临床诊断与分期标准”^[6],明确诊断为中晚期肝癌,且同时满足以下几点入选条件:(1)块状型肝细胞性肝癌伴/不伴肝内子灶;(2)不伴有肝外转移;

表 1 41例患者非碘油沉积区与正常肝组织血流灌注参数比较 (mean ± SD)

灌注参数	肝癌非碘油沉积区	正常肝组织	P值
肝血流量[mL/(100 g·min)]	451.67 ± 121.45	88.43 ± 12.31	<0.01
肝血容量[mL/100 g]	31.61 ± 5.86	12.15 ± 1.97	<0.01
平均通过时间(s)	4.01 ± 2.11	9.13 ± 1.89	<0.01
肝动脉分数(%)	0.451 ± 0.121	0.395 ± 0.211	>0.05
表面通透性[mL/(100 g·min)]	18.745 ± 13.669	20.114 ± 14.613	>0.05

(3)不伴门静脉/下腔静脉瘤栓;(4)没有经过手术治疗;(5)没有严重心肝肾功能衰竭;(6)白细胞计数 $>3.0 \times 10^6/L$;(7)无碘剂过敏。不符合入选标准,或观察到以下任意1种则排除入选:(1)不能按照实验步骤配合完成实验;(2)非因肝癌导致死亡者;(3)实验中出现不良事件,研究者认为受试者应该终止实验的。在试验研究过程,均征得患者或家属同意,且获得医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 扫描: TACE治疗在意大利生产Sias型C臂下进行,采用Seldinger穿刺技术行股动脉穿刺插管,根据CTA重建肿瘤供血动脉情况选用不同型号的导管,先行肝动脉造影,进一步确认肿瘤供血情况,对于多条供血动脉的肝癌尽可能把所有供血动脉全部栓塞,化疗药物选用5-氟尿嘧啶、丝裂霉素、栓塞剂为EADM与40%碘化油混合乳化剂。经造影确认栓塞满意后,结束治疗。

1.2.2 CT扫描方案: 41例患者均于TACE术后4 wk行肝脏CT灌注成像,设备使用GE公司64排VCT机,要求患者禁食4 h以上,检查前训练呼吸并告知注意事项,以取得患者的配合。先行CT平扫,选取最大肿块中的最大层面进行CT灌注扫描,灌注扫描条件为:轴扫模式,管电压120 kV,管电流200 mA,层厚及层间距均为5.0 mm,造影剂为碘普罗胺370 mgI/mL,经肘前静脉以4.5 mL/s的速度团注,总量50 mL,注药后延迟5 s行同层动态扫描,扫描时间50 s,共产生400幅图像。

1.2.3 图像后处理: 400幅灌注扫描图像通过局域网送至GE AW4.3工作站,使用CT Perfusion 3肝脏灌注软件进行计算。腹主动脉确定为输入动脉。计算方法为去卷积法。根据CT灌注同层动态增强图多点选择肝癌碘油沉积区、肝癌碘油非沉积区及远离肝癌的背景肝组织进行测量,测量时避开肝脏边缘及大血管影。系统自动计算生成各ROI的肝肝血流量(hepatic blood flow, HBF)、肝血容量(hepatic blood volume, HBV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)、肝动脉

分数(hepatic artery fraction, HAF)及表面通透性(perfunctory transit, PT)等参数。

1.2.4 随访: 按照实验设计要求患者每月均需定期返院复查及治疗,直到患者死亡,对个别没有如期返院复查治疗的患者进行电话随访。从2011-01/2012-08共有19例患者因肝癌死亡,其中男性14例,女性5例,年龄40-75岁,中位年龄为55岁,生存期2-18 mo,中位生存期为10 mo。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件包进行统计学分析,数据以mean±SD表示。对非碘油沉积区域各灌注参数与正常肝组织各灌注参数比较采用两均数 t 检验,对非碘油沉积区域各灌注参数与生存期的相关性研究采用Spearman相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌TACE术后各灌注参数表现 41例中晚期肝癌患者各灌注参数显示,碘油沉积区域肝癌组织血流灌注消失或明显减少;非碘油沉积区域与正常肝组织比较HBF及HBV等灌注参数均可见不同程度增加,MTT则可见不同程度降低,经 t 检验具有统计学差异。HAF及PT等灌注参数也可见增高,但经 t 检验未见统计学差异(图1,表1)。

2.2 肝癌TACE术后非碘油沉积区域各灌注参数与生存期的相关性研究 19例中晚期肝癌患者非碘油沉积区域各灌注参数与生存期相关性分析显示,HBF、HBV、HAF及PT等灌注参数与生存期密切相关,经Spearman相关分析具有统计学差异;MTT等灌注参数与生存期无明显相关性,经Spearman相关分析未见有统计学差异(表2,3)。

3 讨论

碘油作为一种载体携带抗癌药物选择性沉积于肿瘤组织,并缓慢释放抗癌药物,杀死肿瘤细胞,成为中晚期肝癌最经典的治疗方法^[4]。肝癌的组织类型、肿瘤大小、肝癌供血动脉的多源性、侧支循环、动静脉分流、肝动脉栓塞不完全都

■创新盘点

已经有大量文献报道TACE治疗中晚期肝癌,而且在行TACE治疗前用CT扫描肝癌的部位、形状和是否有转移,以期指导TACE治疗。本文的创新点是,利用CT灌注成像参数分析TACE治疗时的药物分布情况,并用这些参数预测中晚期肝癌患者的生存期。

■应用要点

应用CT灌注成像参数评价TACE的治疗价值以及预期患者的生存期。

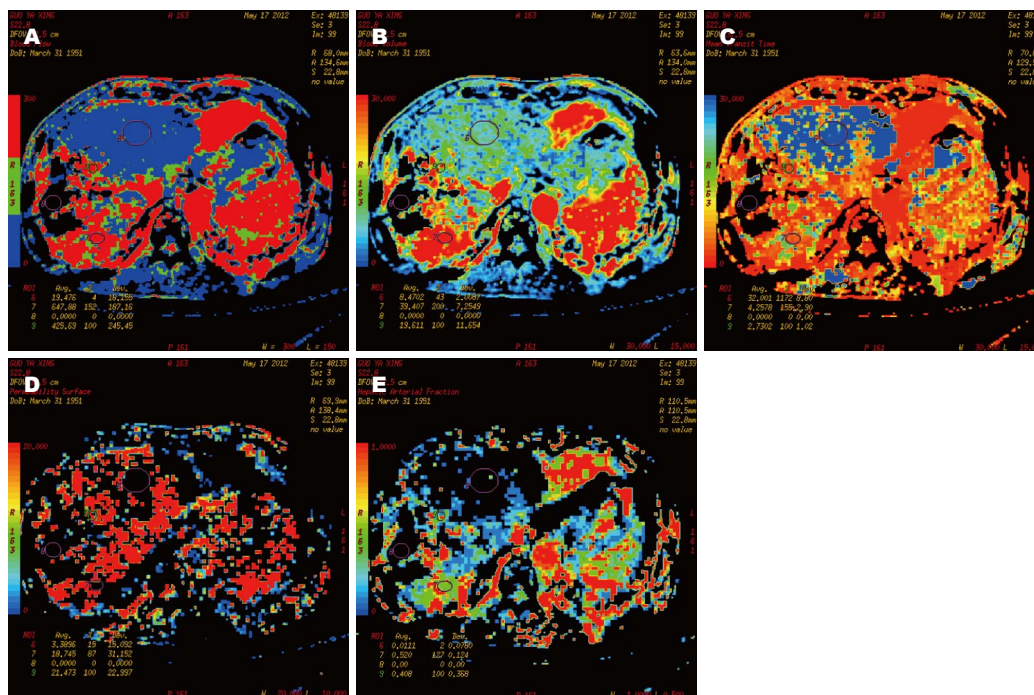


图1 肝右叶肝癌TACE术后非碘油沉积区CT灌注成像。A: 灌注参数HBF值为 $647.88 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 187.16 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, 正常对照区HBF值为 $19.476 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 18.155 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$; B: 灌注参数HBV值为 $39.407 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 7.2549 \text{ mL}/100 \text{ g}$, 正常对照区HBV值为 $8.4702 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 2.0087 \text{ mL}/100 \text{ g}$; C: 灌注参数MTT值为 $4.2578 \text{ s} \pm 2.90 \text{ s}$, 正常对照区MTT值为 $32.001 \text{ s} \pm 8.8 \text{ s}$; D: 灌注参数PT值为 $31.152 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 18.745 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, 正常对照区PT值为 $15.092 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 3.3896 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$; E: 灌注参数HAF值为 $52\% \pm 12.4\%$, 正常对照区HAF值为 $7.8\% \pm 1.1\%$ 。

表2 19例死亡患者非碘油沉积区各灌注参数与生存期的关系

灌注参数					生存期(mo)
肝血流量[mL/(100 g•min)]	肝血容量 (mL/100 g)	通过时间(s)	肝动脉分数(%)	表面通透性[mL/(100 g•min)]	
918.5	78.6	5.5	0.82	90.9	2
762.1	54.3	4.6	0.78	61.6	4
556.7	32.2	3.5	0.43	29.2	6
589.5	34.3	4.0	0.31	45.6	6
681.3	34.7	3.1	0.58	84.0	6
492.3	30.1	3.5	0.60	22.4	8
345.3	25.4	4.5	0.41	27.2	10
362.1	24.3	4.1	0.35	24.6	10
312.4	19.3	3.7	0.37	34.6	10
352.6	18.9	3.2	0.26	31.2	10
417.1	28.1	3.8	0.37	35.2	10
384.4	26.5	3.9	0.29	38.9	10
412.6	18.0	2.6	0.27	39.7	10
354.8	17.4	3.0	0.18	25.5	10
443.1	20.1	2.7	0.34	26.8	10
279.4	14.6	3.1	0.25	29.5	11
255.3	13.8	3.2	0.21	18.9	12
213.7	11.1	3.1	0.15	11.5	14
162.6	10.6	3.9	0.12	25.4	18

会影响碘油在肿瘤内的沉积^[7,8]。既往研究已经证实肝癌TACE术后, 肿瘤内碘油的聚积情况、沉积形态与肿瘤坏死、复发及患者生存期密切相关^[4]。目前, 研究者多采用CT增强扫描图像根据碘油沉积形态及非碘油沉积区病灶的增强表

现来评价肝癌TACE术的疗效及预后情况^[9], 然而由于TACE治疗后碘油密度很高, 有时很难与肝脏增强扫描时混杂在碘油中的高密度造影剂区分, 进而影响到肿瘤血供的判断, CT灌注成像属于功能成像, 可不受高浓度碘油的影响, 能对

表 3 19例死亡患者非碘油沉积区各灌注参数与生存期的相关分析

	Spearman相关系数	P值
HBF与生存期	-0.944	<0.001
HBV与生存期	-0.944	<0.001
MTT与生存期	-0.378	0.110
HAF与生存期	-0.848	<0.001
PT与生存期	-0.669	<0.002

HBF: 计算肝血流量; HBV: 肝血容量; MTT: 平均通过时间;
HAF: 肝动脉分数; PT: 表面通透性。

局部组织内的血流灌注情况进行定量评价。本研究资料显示, TACE术后肝癌组织碘油浓聚区域肝癌组织血流灌注消失或明显减少, 提示该区域肝动脉供血中断或明显减少。碘油缺损/松散区域与正常肝组织比较HBF及HBV等参数均可见不同程度增加, MTT则可见降低, 经统计学分析差异具有显著性, 而PT及HAF等参数也可见增加, 但经统计学分析差异不具有显著性, 提示该区域肿瘤仍有较多动脉血供, 从而为肝癌TACE治疗效果及后续治疗提供理论依据。

实体肿瘤的生物学特征依赖于肿瘤血管生成, 肿瘤血管不仅能促进肿瘤的生长和转移, 还会引起肿瘤血容积、灌注量及毛细血管通透性的变化, 这就是肿瘤CT强化的基础, 肝癌是一种实体肿瘤, 其血液供应丰富, 因而行TACE治疗是临床上有效的治疗手段。有研究^[10,11]证实肝细胞癌CT灌注参数可反映肿瘤的恶性程度及肿瘤微血管密度, 这就提示肝癌CT灌注参数与预后之间可能存在某种相关性, 然而目前研究两者之间相关性的还未见研究报道。我们前期临床观察发现, 中晚期肝癌患者甲胎蛋白升高和寄生血管存在是造成TACE治疗效果不佳的重要因素^[12], 而且异常血管生成对TACE的碘油分布也有较大的影响^[13,14], 由于碘油的分布可以确定药物的集中度, 所以观察碘油的灌注参数能确定药物对组织的渗透状况, 是判断治疗效果的一个指标。研究也显示CT灌注参数可以观察TACE对中晚期肝癌的治疗效果^[15-17], 本研究临床观察表明CT灌注参数HBF、HBV、HAF及PT均与生存期呈正相关, 进一步证实了CT灌注参数能够反映肝细胞癌生物学特征, 对预测患者生存期有着重要价值。但由于本研究的病例相对较少, 肝癌CT灌注参数与预后之间的关系还需要大样本病例研究, 同时也需要对TACE治

疗后两者变化进行连续动态跟踪观察, 所以我们将继续开展大样本分析, 并进一步动态观察患者生存期与CT灌注指标的相关性研究。

4 参考文献

- 1 Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: where do we go now? *Clin Cancer Res* 2010; 16: 390-397 [PMID: 20068087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2084]
- 2 Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1122-1132 [PMID: 21665892 DOI: 10.1093/carcin/bgr108]
- 3 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667 [PMID: 15858105]
- 4 Chung GE, Lee JH, Kim HY, Hwang SY, Kim JS, Chung JW, Yoon JH, Lee HS, Kim YJ. Transarterial chemoembolization can be safely performed in patients with hepatocellular carcinoma invading the main portal vein and may improve the overall survival. *Radiology* 2011; 258: 627-634 [PMID: 21273524 DOI: 10.1148/radiol.10101058]
- 5 Gwon D, Ko GY, Yoon HK, Sung KB, Kim JH, Lee SS, Lee JM, Ohm JY, Shin JH, Song HY. Hepatocellular carcinoma associated with membranous obstruction of the inferior vena cava: incidence, characteristics, and risk factors and clinical efficacy of TACE. *Radiology* 2010; 254: 617-626 [PMID: 20093533 DOI: 10.1148/radiol.09090738]
- 6 杨秉辉, 夏景林. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 324-325
- 7 Ke-Wei L, Tian-Fu W, Xi L, Lü-Nan Y, Bo L, Yong Z, Wu-Sheng L, Wen-Tao W, Ming-Qing X, Jia-Yin Y, Yu-Kui M, Zhe-Yu C. The effect of postoperative TACE on prognosis of HCC with microscopic venous invasion. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1944-1946 [PMID: 22246191 DOI: 10.5754/hge11845]
- 8 Kim JH, Yoon HK, Ko GY, Gwon DI, Jang CS, Song HY, Shin JH, Sung KB. Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: analysis of the response and prognostic factors after transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 2010; 255: 270-277 [PMID: 20308463 DOI: 10.1148/radiol.09091076]
- 9 Wang X, Li J, Peng Y, Dai Y, Xu W. Influence of preoperative transarterial chemoembolization on the prognosis for patients with resectable hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of randomized trials. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 869-874 [PMID: 21830407]
- 10 Zhu AX, Holalkere NS, Muzikansky A, Horgan K, Sahani DV. Early antiangiogenic activity of bevacizumab evaluated by computed tomography perfusion scan in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2008; 13: 120-125 [PMID: 18305056 DOI: 10.1634/theoncologist.2007-0174]
- 11 Petralia G, Summers P, Viotti S, Montefrancesco R, Raimondi S, Bellomi M. Quantification of variability in breath-hold perfusion CT of hepatocellular carcinoma: a step toward clinical use. *Radiology* 2012; 265: 448-456 [PMID: 22996748 DOI: 10.1148/radiol.12111232]

■同行评价

本文研究内容为临床关注度较高的问题, 选题较新, 运用CT灌注扫描成像对接受TACE治疗的中晚期肝癌病人的预后判断价值, 且发现有意义的线索, 对临床用TACE治疗中晚期肝癌有一定指导意义。

- 12 何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 林志东, 谢协驹, 李孟森. AFP含量和寄生血管对中晚期肝癌患者TACE治疗的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1931-1938
- 13 Miyayama S, Yamashiro M, Shibata Y, Hashimoto M, Yoshida M, Tsuji K, Toshima F, Matsui O. Arterial blood supply to the caudate lobe of the liver from the proximal branches of the right inferior phrenic artery in patients with recurrent hepatocellular carcinoma after chemoembolization. *Jpn J Radiol* 2012; 30: 45-52 [PMID: 22139759 DOI: 10.1007/s11604-011-0007-x]
- 14 Min YW, Kim J, Kim S, Sung YK, Lee JH, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, Koh KC, Paik SW, Yoo BC, Lee JH. Risk factors and a predictive model for acute hepatic failure after transcatheter arterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2013; 33: 197-202 [PMID: 23295052 DOI: 10.1111/liv.12023]
- 15 Liu YS, Chuang MT, Tsai YS, Tsai HM, Lin XZ. Nitroglycerine use in transcatheter arterial (chemo)embolization in patients with hepatocellular carcinoma and dual-energy CT assessment of Lipiodol retention. *Eur Radiol* 2012; 22: 2193-2200 [PMID: 22618520 DOI: 10.1007/s00330-012-2484-4]
- 16 Bargellini I, Vignali C, Cioni R, Petruzzi P, Cicorelli A, Campani D, De Simone P, Filipponi F, Bartolozzi C. Hepatocellular carcinoma: CT for tumor response after transarterial chemoembolization in patients exceeding Milan criteria--selection parameter for liver transplantation. *Radiology* 2010; 255: 289-300 [PMID: 20308465 DOI: 10.1148/radiol.09090927]
- 17 Kubota K, Yamanishi T, Itoh S, Murata Y, Miyatake K, Yasunami H, Morio K, Hamada N, Nishioka A, Ogawa Y. Role of diffusion-weighted imaging in evaluating therapeutic efficacy after transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 24: 727-732 [PMID: 20664980 DOI: 10.3892/or_00000914]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

超声造影灌注诊断多种类型肝转移癌55例

张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东

张国栋, 王鹤, 何珏, 黄东, 广西医科大学基础医学院医疗仪器与临床工程教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

邹单东, 广西医科大学第四附属医院(柳州市工人医院)检验科 广西壮族自治区柳州市 545000

王鹤, 何珏, 黄东, 江西赣南医学院 江西省赣州市 341000

张国栋, 讲师, 主要从事药物研发和纳米工程研究。

作者贡献分布: 主要课题设计和文章起草由张国栋完成; 病例选择、临床资料收集由邹单东完成; 数据分析由王鹤、何珏及黄东完成; 文章修改和审阅由张国栋完成。

通讯作者: 张国栋, 讲师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学基础医学院医疗仪器与临床工程教研室。zhangguodong_gx@163.com

收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-12

接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-28

Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases

Guo-Dong Zhang, Dan-Dong Zou, He Wang, Yu He, Dong Huang

Guo-Dong Zhang, He Wang, Yu He, Dong Huang, Department of Medical Instruments and Clinical Engineering, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Dan-Dong Zou, Department of Laboratory Medicine, Liuzhou Worker Hospital, Liuzhou 545000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

He Wang, Yu He, Dong Huang, Medical College of Ganzhou City, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Guo-Dong Zhang, Lecturer, Department of Medical Instruments and Clinical Engineering, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangguodong_gx@163.com

Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-12

Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the value of contrast-enhanced ultrasound (CEU) in the diagnosis of liver metastases.

METHODS: Fifty-five patients who were diagnosed with a malignant tumor and focal liver lesions highly suspected of metastases underwent CEU and plain ultrasound. The size and number of intrahepatic lesions detected by CEU and plain ultrasound were recorded and compared.

RESULTS: CEU revealed 193 lesions in 53 patients, and ultrasound revealed 147 lesions in 50 patients. The perfusion characteristics of CEU had four main forms of manifestations: rapid ring enhancement of the tumor, rapid mass-like enhancement and rapid clearance during the arterial phase, no enhancement of the lesion during the period between the arterial phase and parenchymal phase, and delayed enhancement of the lesion during the arterial phase or portal venous phase and mild withdrawal in the parenchyma in the later stage.

CONCLUSION: CEU has a higher accuracy than plain ultrasound in the diagnosis of liver cancer, especially early liver cancer in which small lesions are newly formed.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Ultrasound; Liver metastases

Zhang GD, Zou DD, Wang H, He Y, Huang D. Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2849-2853 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2849.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2849>

摘要

目的: 观察超声造影在肝转移癌患者中的诊断价值。

方法: 临床采用超声造影技术对55例诊断为恶性肿瘤并经超声检测高度怀疑存在肝占位患者进行影像学检查, 同时对55例患者进行普通超声。观察并记录两种影像学检查下肝内病灶的大小以及数目等。

结果: 超声造影检查共发现53例193个病灶, 普通超声共发现50例147个病灶。超声造影的灌注特征主要有4种表现形式: 第1种为肿瘤周边呈快速环状强化; 第2种为动脉期快速团块强化, 快速廓清; 第3种为动脉期至实质期病灶内

■背景资料

与传统的超声检查不同, 超声造影在超声结合造影剂的基础上, 能够显著增强肝脏的二维超声信号, 通过屏幕能够提供肿瘤组织与周围正常组织之间明显的血流灌注差异, 从而较大程度上提升了超声的灵敏性与特异性。SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术是目前临床上较常用的超声造影技术, 在肝脏、肾脏肿瘤检测方面, 已有较多研究报道。其能增加肿瘤血管性病变的检出率, 对于转移性癌的诊断亦有较高的准确性。

■同行评议者

吴泰瑞, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■ 研发前沿

超声造影则是近年来被用于临床的一种新型超声检测手段,特别在联合使用了SonoVue、CnTI技术后,能够产生二次谐波图像,二次谐波图像的生成可以显著帮助区分肝实质与病灶之间的回声变化。

均无增强;第4种为门脉期或动脉期出现延迟增强现象,而在实质后期出现轻度退出。

结论: 超声造影在临床诊断肝转移癌中具有较高的临床准确率,特别在病变早期,微小病灶刚形成阶段,有着较高的检测阳性率。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声造影; 灌注; 肝转移癌

核心提示: 本研究采用SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术对临床怀疑为肝转移癌患者中的诊断价值进行了临床观察,对肿瘤检出率、造影剂灌注时相以及回声变化规律进行了观察探讨,结果表明,超声造影在临床诊断肝转移癌中具有较高的临床准确率,特别在病变早期,微小病灶刚形成阶段,有着较高的检测阳性率。

张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东. 超声造影灌注诊断多种类型肝转移癌55例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2849-2850
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2849.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2849>

0 引言

随着近年来影像学技术的发展以及超声造影的广泛应用,目前对于脏、肾脏等脏器血管性病变造影的研究亦有了较大的进展,其在诊断肿瘤发病中的研究已有了一些文献报道^[1]. 与传统的超声检查不同,超声造影在超声结合造影剂的基础上,能够显著增强肝脏的二维超声信号,通过屏幕能够提供肿瘤组织与周围正常组织之间明显的血流灌注差异,从而较大程度上提升了超声的灵敏性与特异性^[2]. SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术是目前临床上较常使用的超声造影技术,在肝脏、肾脏肿瘤检测方面,已有较多研究报告^[3-5]. 其能增加肿瘤血管性病变的检出率,对于转移性癌的诊断亦有较高的准确性. 本研究采用SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术对临床怀疑为肝转移癌患者中的诊断价值进行了临床观察,对肿瘤检出率、造影剂灌注时相以及回声变化规律进行了观察探讨,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-01/2012-12我院共对197例肝占位患者进行超声造影检查,其中55例检查后被确诊为恶性肿瘤并高度怀疑存在肝转移. 对患者原发性癌进行统计,其中26例为消化系肿瘤、

12例为乳腺癌、6例为呼吸道肿瘤、7例为肉瘤、4例为其他肿瘤. 其中男性患者25例,女性患者30例,年龄34-79岁,平均年龄57.1岁±12.2岁. 55例患者均进行普通超声检查,结果示51例存在肝占位. 55例患者中,有40例在超声造影检查后进行手术或穿刺活检,已经病理检查而确诊,15例为患者已存在原发性肿瘤,近期经影像学检查发现肝脏内存在新发病灶而确诊. 病理检查需要2名病理科医师进行(临床工作至少10年以上),并对结果进行双盲诊断. 对于超声造影检查后呈现不明显病变的,或穿刺后经病理检测仍难以确诊者,可以重新进行1次超声造影或穿刺活检. 本研究在实施前已得到我院伦理委员会的批准. 同时亦取得患者及家属充分理解、知情,研究实施前均已签署知情同意书. 本研究所使用的仪器为Technos DU6,同时配备CnTI实时超声造影匹配成像技术. 超声造影剂为SonoVue(Bracco公司),造影剂微泡为磷脂微囊的六氟化硫(sulfur hexafluoride, SF₆), pH = 4.5-7.5,直径在2.5 μm左右. 在患者接受超声造影前,先将造影剂冻干粉溶解于5 mL生理盐水中,充分混匀,配成浓度为5 mg/mL, SF₆有效成分12 mg/人的造影剂. 每例患者均给予肘静脉注射2.4 mL造影剂,注射时间宜快,3 s内注射完毕.

1.2 方法 在进行造影剂静脉给药前,应进行一次常规肝脏超声检查,对患者肝脏内部肿瘤的位置、大小以及数目等进行详细的观察、记录. 由于肝转移癌患者肝内转移病灶往往存在多处,所以在超声造影检查时,需要进行更多的灌注时相观察. 首先,根据普通超声的检查结果,我们将肿瘤病灶最多的部位作为扫查切面,扫描时使用CnTI技术. 此时,在机器屏幕上还不能见到肝灰阶图像. 当给患者注入造影剂后,即可见到该位置肿瘤灌注以及回声强度的改变. 当扫描后得到实质期有诊断价值的时相后,迅速对整个肝脏常进行扫描,能够发现造影剂已经退出呈弱回声的新肿瘤病灶区域. 对于图像效果显示不佳或需要进行其他位置造影的,一般在第一次检查后10 min后进行。

统计学处理 应用SPSS14.0软件,计量资料以mean±SD表示,均数比较采用 t 检验、方差因素分析,计数资料比较采用方差检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝内病灶大小及数目检测结果分析 超声造

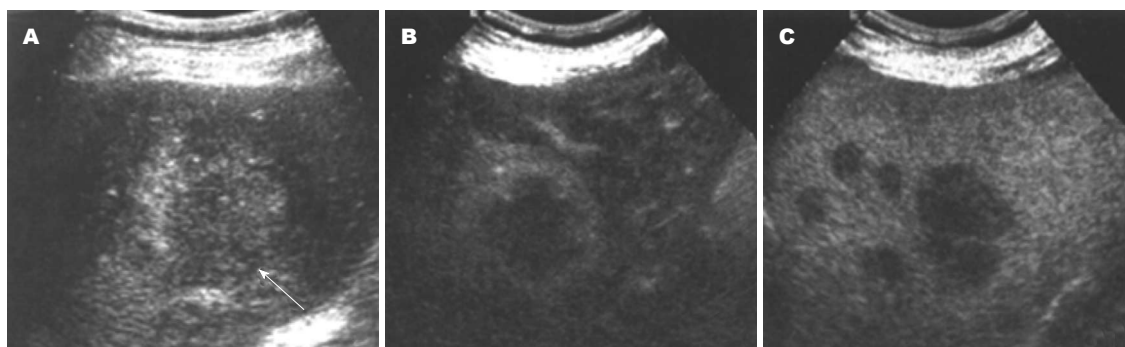


图1 结肠癌肝转移. A: 肝脏内不可见转移灶; B: 动脉期能够见到明显的环状强化; C: 实质期, 肝右后叶可见4个小转移灶.

■相关报道

临床研究表明, 25%-50%的肿瘤患者在原发性肿瘤发生之初, 就出现有肝转移. 目前研究认为, 肝转移好发机制可能与肝脏血液供应充足有关.

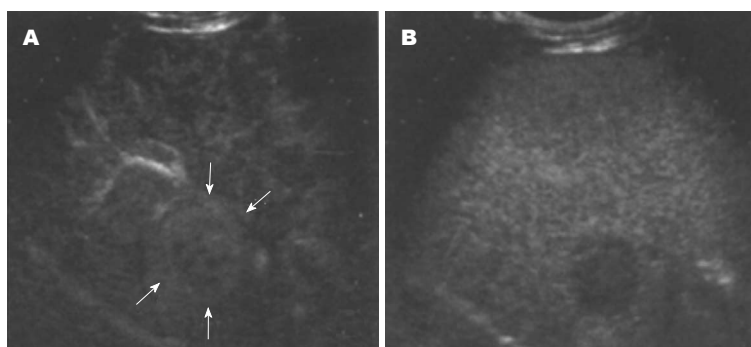


图2 胃癌术后1 mo. A: 造影剂注入15 s, 肝脏内肿瘤转移灶出现迅速环状强化; B: 1 min后, 肿瘤内部无回声.

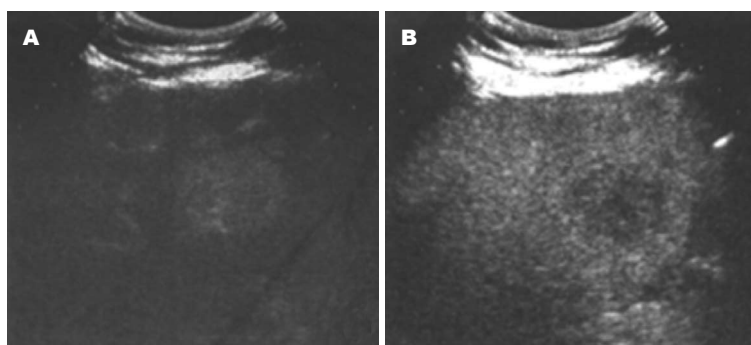


图3 肝内占位. A: 造影剂注入12 s后, 肿瘤内部出现迅速团状强化; B: 26 s后, 肿瘤内部造影剂逐渐廓清.

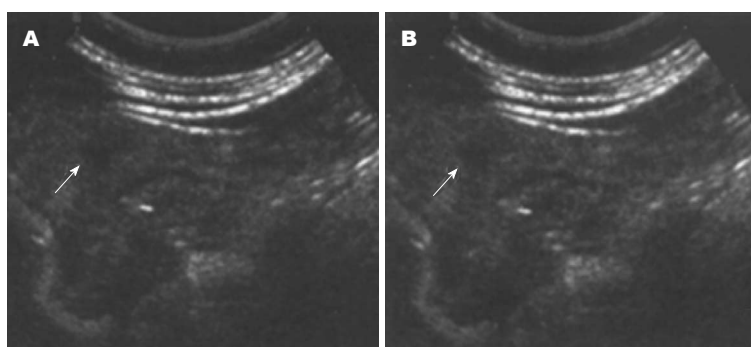


图4 肺癌肝转移. A: 动脉期肝右叶占位未见显著强化; B: 自动脉期至4 min时, 肿瘤内部一直未出现充盈, 回声低于肝脏.

影检查结果显示, 共检测出53例193个肝内转移癌病灶, 2例经检查排除肝转移癌可能, 典型图像表现如图1-5. 普通超声检查结果显示, 共检测出50例147个肝内转移癌病灶. 此外, 检查发现普通超声比超声造影少检测46个肝内病灶, 大多属于病灶大小0.8-1.5 cm之间. 超声造影检查

1 cm以下的小病灶能力明显优于普通超声, 两组差异比较有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 肝转移癌造影灌注特征 选择显示病灶最多的扫查切面观察109个病灶的灌注特征, 本研究发现, 在进行超声造影后, 可根据动脉期灌注形式分为以下几种表现: 环状增强、团状增强、

■应用要点

对于肝转移灶的数目、大小以及分布部位的检查,对于进一步治疗方案的确定提供了直接帮助。

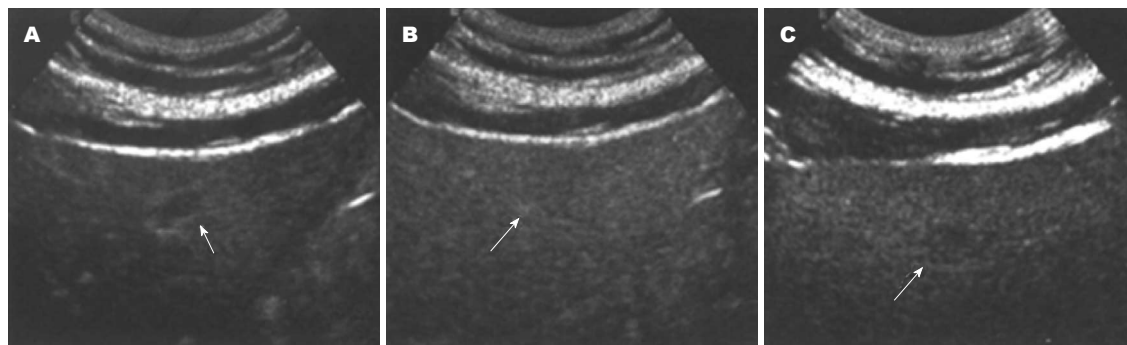


图5 乙状结肠癌肝转移1年。A: 肿瘤周围可见似环状增强为微泡闪烁血管; B: 35 s后, 门脉期肿瘤内部与肝同步灌注呈等回声; C: 4 min后, 造影剂轻度退出, 呈弱回声。

表1 肝内病灶大小及数目检测结果分析 (n , mean \pm SD)

检查方法	总病灶	病灶数				最小病灶大小(cm)
		<1 cm	1-3 cm	>3-5 cm	>5 cm	
超声造影	193	37	112	25	19	0.6
普通超声	147	16	84	26	21	0.9
χ^2 值		4.35	0.03	1.47	0.17	-
P 值		<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	-

表2 肝转移癌109个病灶超声造影开始增强及开始消退时间 (n , mean \pm SD)

原发癌	n	开始增强时间(min)	开始消退时间(min)
消化系肿瘤	45	14.4 \pm 4.3	101.4 \pm 122.9
乳腺癌	23	13.9 \pm 7.5	34.8 \pm 26.0 ^{acog}
肺癌	15	13.8 \pm 0.9	84.7 \pm 25.8
间质肉瘤	17	22.8 \pm 7.8	87.6 \pm 30.7
其他	9	11.8 \pm 1.9	146.2 \pm 97.2

$t = 2.57$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 消化系肿瘤; $t = 5.79$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 肺癌; $t = 5.87$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 间质肉瘤; $t = 5.19$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 其他。

延迟增强、无增强。本研究中, 有79例为环状增强, 主要表现为, 造影后动脉期肿瘤病灶周围出现迅速环状增强, 造影剂在实质期逐渐出现不同程度的廓清; 17例为团状增强, 表现为造影后动脉期肿瘤病灶出现迅速的团状增强, 并在门脉期及实质期退出; 9例为无增强, 表现为造影后动脉期到实质期过程中, 肿瘤未发生任何增强、变化; 4例为延迟增强, 表现为造影后, 动脉期或门脉期出现明显的延迟增强或与肝同步, 并在实质后期轻度退出。109个经超声造影重点检查的肝转移癌灶灌注开始增强时间、开始消退时间如表2、表3所示。

3 讨论

原发性肿瘤出现肝转移在临床上较为多见, 临

表3 肝转移灶灌注后不同增强形式的造影剂开始增强及消退时间 (n , mean \pm SD)

增强形式	n	开始增强时间(min)	开始消退时间(min)
环状增强	79	16.1 \pm 7.8 ^a	81.0 \pm 88.2 ^e
团状增强	17	13.1 \pm 2.1 ^c	59.2 \pm 48.3 ^g
无增强	9	-	-
延迟增强	4	33.7 \pm 12.7	254.8 \pm 51.2

$t = 4.12$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 6.75$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 3.89$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 7.30$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 延迟增强。

床研究表明^[6], 25%-50%的肿瘤患者在原发性肿瘤发生之初, 就出现有肝转移。目前研究认为^[7], 肝转移好发机制可能与肝脏血液供应充足有关。由于肝脏拥有门静脉以及肝动脉双重血供, 因此具有转移灶生长的理想环境^[8]。临床上如能对肝转移病灶进行迅速、可靠的检查, 对于患者的预后极为重要。此外, 对于肝转移灶的数目、大小以及分布部位的检查, 对于进一步治疗方案的确定提供了直接帮助^[9]。目前, 临床上用于检测肝转移癌的影像学方法较多, 常见的有超声、CT以及MRI等^[10]。当临床研究发现, 常规超声的特异性与灵敏性明显不如CT以及MRI。但是, 对于直径<1 cm的小肿瘤, CT与MRI检查往往也会出现漏诊^[11]。超声造影则是近年来被用于临床的一种新型超声检测手段, 特别在联合使用了SonoVue、CnTI技术后, 能够产生二次谐波

图像. 二次谐波图像的生成可以显著帮助区分肝实质与病灶之间的回声变化. 另外, 超声造影技术还可以通过低机械指数下的延续实时成像, 能够观察到病灶血管与微循环灌注时相改变, 从而帮助判断类型与组织学特征.

3.1 超声造影与肝转移癌检出率 本研究采用CnTI低机械指数成像技术进行超声造影检查, 发现超声造影比普通超声多检测出46个肝转移病灶, 其中以 <1 cm的病灶为主. 说明在小病灶的检查上, 超声造影相比较普通超声, 更有优势. 此外, 超声造影技术的使用, 对于微小病灶的实质期发现有较高的临床价值. 有研究表明, 超声造影与传统超声比较, 其在检测微小病变的能力方面更强, 当肿瘤大小超过0.3 cm时即可发现^[12]. 本研究结果表现, 超声造影检测出最小的肿瘤病灶大小为0.6 cm. 此外, 我们对造影检查过程中退回基波状态以及造影完毕后退回高机械指数状态下再次进行超声检测, 结果发现微小的肿瘤病灶还是不能被检测出来, 表明超声造影检查, 可以提高微小肝转移肿瘤的检查阳性率, 起到早期确诊的作用.

3.2 肝转移癌造影的灌注特征 目前, 关于动脉期的造影灌注形式主要有以下两个方面的认识^[13-15]: (1)原发性消化系癌, 发生肝转移: 低血流供应的病灶一般为周边环状增强, 并可见轻度点状回声的增强变化, 然后出现造影剂的迅速退出, 增强的病灶出现弱回声, 该类型与血管瘤灌注相比, 差异主要在于退出较快. 本研究发现, 在23例乳腺癌肝转移患者中, 超声造影下肿瘤可见环状增强, 但造影剂在发生退出的时间与其他肝转移肿瘤比较, 更为的迅速; (2)原发性肾细胞癌、恶性黑色素瘤等, 发生肝转移: 此类原发性肿瘤主要为富血管类肿瘤, 在超声造影下, 往往能够见到动脉期出现增强, 边缘增强或无增强, 实质期回声出现缺失, 在增强的肝脏组织中出现无回声或弱回声. 本研究结果发现, 肝转移癌主要存在4种灌注形式, 其中以状增强最为常见, 其实是团状增强, 这与一些国内学者的研究较为相近.

3.3 超声造影灌注时相病理意义 本研究中, 一些

患者肝转移癌灶动脉期的超声造影呈现团状增强, 而另一些患者则呈现无增强. 通过病例检查, 我们能够发现团状增强的肿瘤具有较强的活性, 而无增强的肿瘤则未诊断出明显的恶变倾向. 该表现能够说明超声造影动脉期时相的观察可能帮助临床评估病灶的存活程度, 为临床进一步治疗提供依据.

总之, 超声造影在临床诊断肝转移癌中具有较高的临床准确率, 特别在病变早期, 微小病灶刚形成阶段, 有着较高的检测阳性率.

4 参考文献

- 1 尹珊珊, 陈敏华, 严昆, 吴薇, 杨薇, 范智慧, 王艳滨, 戴莹. 超声造影对肝转移癌的诊断价值. 中华超声影像学杂志 2005; 14: 354-358
- 2 黄建国, 翁高龙, 查莉, 曾书娥, 褚丹, 梅丽丽, 王章容, 李倩, 卢志华. 乳腺浸润性导管癌肝转移的超声造影特性. 中国超声医学杂志 2012; 28: 413-416
- 3 周悦, 高剑波, 郭华, 万娅敏, 张瑞芳, 潘元威. 实时超声造影技术对VX2兔肝癌影像学模型的诊断价值. 世界华人消化杂志 2011; 19: 472-476
- 4 戴新, 李为民, 于立宝, 赵洪强. 超声造影在肝癌肝移植术后肝转移癌射频消融治疗之中的应用. 临床消化病杂志 2012; 24: 91-93
- 5 魏凌琳, 陈晓宇, 叶真. 超声造影误诊肝脏局灶性病变原因分析. 中国医学影像技术 2011; 27: 787-790
- 6 吴洁, 杨薇, 陈敏华. 超声造影在微小及隐匿性肝转移癌的应用进展. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 06: 966-968
- 7 廖继安, 张化诚, 金夏祥, 王爱玉. 不同分化程度、不同病理类型小肝癌患者超声造影表现分析. 中华医学超声杂志(电子版) 2012; 9: 136-141
- 8 陈新燕. 超声造影与增强CT扫描对肝脏局灶性病变的诊断价值比较. 中国基层医药 2013; 20: 507-508
- 9 张珍东, 黄品同, 刘德林, 过姿芳. 实时超声造影对胃肠道癌同时性肝转移微小病灶的诊断价值. 中华超声影像学杂志 2010; 19: 546-547
- 10 裴小青, 刘隆忠, 郑玮, 刘敏, 李静怡, 李安华. 肝局灶性病变超声造影的误诊病例分析. 中华超声影像学杂志 2010; 19: 314-316
- 11 罗葆明, 李高鹏. 超声引导射频消融治疗肝癌的一些难点及其解决方案研究进展. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 8: 1893-1898
- 12 何雁, 李水晶, 张玲, 耿丽娜, 李蕾, 曾金凤. 超声造影在肝肿瘤定性及射频消融治疗效果的评价. 中国超声医学杂志 2012; 28: 629-632
- 13 钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 479-486
- 14 刘晓玲, 刘健. 超声造影在肝硬化增生结节及小肝癌鉴别诊断中的研究进展. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 8: 2215-2219
- 15 黄婷, 董常峰, 罗婷婷, 徐伟韬, 李汉英, 何为芬. 小肝癌与肝硬化再生结节的超声造影定量分析的临床价值. 中国超声医学杂志 2012; 28: 733-736

同行评价

本文设计合理, 参考文献较新, 研究有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕

■背景资料

目前公认肝癌的发生与环境及遗传等因素相关。流行病学调查发现肝癌的发生常存在显著的家族聚集现象, 且暴露在这样的环境危险因素下, 最终只有少数人患肝癌, 提示肝癌的发生可能与遗传密切相关。而HLA基因多态性被认为与肝癌等某些疾病的遗传易感性密切相关。

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021

刘芳, 硕士, 主要从事肝脏疾病的诊疗和发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960170

广西卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 200924

作者贡献分布: 此课题由李国坚、吴继周及刘芳设计; 研究过程及标本采集由刘芳、吴健林、陈务卿、马莎莎、胡蝶飞、宁秋悦及庞裕共同完成; 数据分析由刘芳与吴健林共同完成; 研究器材由吴继周提供; 论文写作由刘芳、李国坚及吴继周共同完成; 吴继周审校。

通讯作者: 李国坚, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。

liguojianjy@yaho.com.cn

收稿日期: 2013-06-12 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi

Fang Liu, Guo-Jian Li, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Wu-Qing Chen, Sha-Sha Ma, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang

Fang Liu, Guo-Jian Li, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Wu-Qing Chen, Sha-Sha Ma, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960170; and the Science Foundation of Health Bureau of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200924

Correspondence to: Guo-Jian Li, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. liguojianjy@yaho.com.cn

Received: 2013-06-12 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma (HCC) in a high-incidence area in Guangxi, China.

METHODS: Two hundred subjects from families which have had two or more than two patients

with hepatocellular carcinoma (FHCC group) and another 200 subjects from families which have not had patients with any malignant tumor (FNC group) were selected. Polymerase chain reaction/sequence specific primer was used to determine the frequencies of HLA-DRB1*08/16 alleles.

RESULTS: There was no statistical difference in the frequency of HLA-DRB1*08 allele between the FHCC group and the FNC group (6.0% vs 5.5%, $\chi^2 = 0.046$, $P = 0.830$). The frequency of HLA-DRB1*08 allele did not significantly increase with the increase in the number of patients with HCC in the FHCC group (5.4% vs 6.5%, $\chi^2 = 0.120$, $P = 0.729$). However, the frequency of HLA-DRB1*16 allele in the FHCC group was significantly higher than that in the FNC group (24% vs 15.5%, $\chi^2 = 4.559$, $P = 0.033$), and the frequency of HLA-DRB1*16 allele rose significantly with the increase in the number of patients with HCC in the FHCC group (17.2% vs 29.9%, $\chi^2 = 4.401$, $P = 0.036$).

CONCLUSION: There may be a significant correlation between HLA-DRB1*16 allele and familial aggregation of hepatocellular carcinoma. However, HLA-DRB1*08 allele may not be associated with familial aggregation of hepatocellular carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: HLA-DRB1*08/16; Hepatocellular carcinoma; Familial aggregation

Liu F, Li GJ, Wu JZ, Wu JL, Chen WQ, Ma SS, Hu DF, Ning QY, Pang Y. Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2854-2859
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2854.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2854>

摘要

目的: 探讨广西肝癌高发区HLA-DRB1*08/16

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

等位基因与广西原发性肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)家族聚集性的关系。

方法: 在广西肝癌高发区配对选择肝癌高发家族成员、无癌家族成员各200例作为研究对象。应用聚合酶链反应/序列特异性引物(polymerase chain reaction/sequence specific primer, PCR-SSP)检测研究对象中HLA-DRB1*08/16等位基因的频率, 分析其与广西肝癌高发区肝癌家族聚集性的关系。

结果: (1)HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发家族成员组携带率(6.0%)及无癌家族成员组的携带率(5.5%)经比较差别无统计学意义($\chi^2 = 0.046$, $P = 0.830$), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发家族成员组携带率(24%)明显高于无癌家族成员组(15.5%), 该基因在两组中分布有显著差异($\chi^2 = 4.559$, $P = 0.033$); (2)随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别(5.4% vs 6.5%, $\chi^2 = 0.120$, $P = 0.729$), 而HLA-DRB1*16等位基因的表达频率明显升高(17.2% vs 29.9%, $\chi^2 = 4.401$, $P = 0.036$)。

结论: HLA-DRB1*08可能与广西肝癌家族聚集无明显关系, HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: HLA-DRB1*08/16; 肝细胞肝癌; 家族聚集性

核心提示: 广西具有其独特的民族、地域特点, 本研究认为HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关, 而HLA-DRB1*08可能与其无关。

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈秀卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2854-2859 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2854.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2854>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要类型, 约占95%^[1]; 同时也是全球第6大常见肿瘤之一, 导致全球癌症死亡的第3大主因^[2]。目前乙型、丙型肝炎病毒感染, 黄曲霉毒素摄入, 饮水污染, 过量饮酒, 遗传等^[3-5]均被认为是肝癌致病的危险因素。流行病学调查证实, 暴露在同样的环境危险因素下, 如同一

地区饮用相同水源、食用同样黄曲霉毒素污染粮食的人群中, 最终发现只有少数人罹患肝癌^[6], 此外, 流行病学调查同样发现肝癌的发生存在显著的家族聚集现象^[7], 以上均提示肝癌的发生可能与机体的易感基因密切相关。HLA基因多态性已被研究表明与炎症、病毒感染、肿瘤等相关^[8], 其基因组中最具有多态性的基因HLA-DRB1与某些疾病的遗传易感性密切相关^[9]。广西是我国肝癌高发区之一, HLA-DRB1*08/16分别是广西地区的低频率和高频率等位基因^[10,11]。近年来HLA-DRB1的部分等位基因对与广西HBV相关性肝病已有研究^[12], 但尚无DRB1*08/16这两个位点对广西肝癌家庭聚集的影响关系的报道。

1 材料和方法

1.1 材料 在广西肝癌高发区应用配对方法选择研究对象: 即选择肝癌高发家庭成员和与之匹配的无癌家族成员, 其中肝癌高发家族成员为实验组、无癌家族成员为对照组; 配对条件为相同性别、年龄(± 5 岁)、相同民族、相同HB-sAg状况、相同生活环境、相同生活条件。肝癌高发家族成员入选标准为: 直系亲属中发生过两例或以上HCC患者的家庭成员, HCC诊断符合第四届全国肝癌学术会议修订的肝癌诊断标准; 无癌家族成员入选标准为: 直系亲属中未发生过任何恶性肿瘤病例的家族成员。肝癌高发和无癌家族成员各200例, 平均年龄分别为30.4岁 \pm 18.7岁、31.3岁 \pm 18.6岁。所有研究对象均未检测出受丙型肝炎病毒感染。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及处理: 抽取研究对象空腹时静脉血5 mL收集于普通血清试管, 2 mL收集于依地酸二钠抗凝试管。血清管中血样离心后送血清于广西医科大学第一附属医院检验中心检测乙型肝炎两对半、HBV DNA、丙型肝炎抗体(若丙型肝炎抗体阳性则进一步检测HCR-RNA)、肝功能等项目。将抗凝管中血样混匀后分装, 每管300 μ L, 置于-80 $^{\circ}$ C美国Thermo Fisher超低温冰箱中保存, 待提取DNA。

1.2.2 DNA的提取及质量监控: 使用购自美国Promega公司的人基因组试剂盒并按其提供的详细步骤对冻存血液提取DNA。提取后用紫外分光光度仪及电泳对DNA质量进行双重监控, 选取纯度 $A_{260/280}$ 比值在1.6-1.8之间、同时电泳条带一、清晰、无杂质的DNA为合格样品。将合

■ 研究前沿

HLA等位基因多态性与乙型肝炎病毒感染及原发性肝癌发生的关系一直是研究热点。广西是我国肝癌高发区之一, 同样存在显著的肝癌家族聚集现象, 而HLA-DRB1*08/16分别是广西地区的低频率和高频率等位基因, 因此探讨HLA-DRB1*08/16位点与广西肝癌家族聚集是否存在密切关系成为本文研究重点。

■ 相关报道

HLA等位基因多态性与原发性肝癌、宫颈癌、鼻咽癌、甲状腺乳头状癌、白血病、脑神经胶质瘤等遗传易感密切相关。同时马莎莎等发现HLA-DRB1*04等位基因与广西肝癌高发区原发性肝癌家族聚集性存在相关性。

表 1 引物序列、退火温度及时间、目的基因长度

基因	引物序列(5'-3')	退火	目的片段(bp)
HLA-DRB1*08	上游 AGTACTCTACGGGTGAGTGTT	61 °C, 40 s	214
	下游 CTGCAGTAGGTGTCCACCAG		
HLA-DRB1*16	上游 TCCTGTGGCAGCCTAAGAG	56 °C, 40 s	137
	下游 CTCGTCACCGCCCGGT		
HGH(内参)	上游 CAGTGCCTTCCCAACCATTCCTTA 下游 ATCCACTCACGGATTCTGTGTGTTTC	与位点相同	432

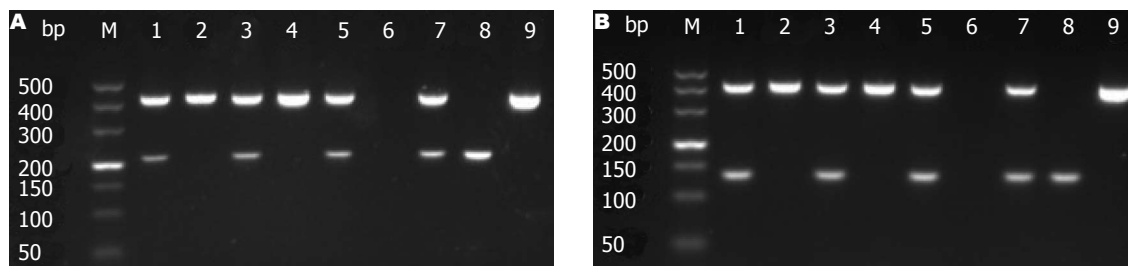


图 1 HLA-DRB1*08和HLA-DRB1*16电泳图。A: HLA-DRB1*08, M: Marker; 1, 3, 5: 为阳性扩增产物; 2, 4: 阴性扩增产物; 6: 标准阴性对照; 7: 标准阳性对照; 8: 无内参的阳性对照(214 bp); 9: 无目的基因的内参照(432 bp); B: HLA-DRB1*16, M: Marker; 1, 3, 5: 阳性扩增产物; 2, 4: 阴性扩增产物; 6: 标准阴性对照; 7: 标准阳性对照; 8: 无内参的阳性对照(137 bp); 9: 无目的基因的内参照(432 bp)。

格的DNA浓度调整为30-50 ng/ μ L, 放置于-20 °C 澳柯玛冰柜中保存备用。

1.2.3 引物的制备: 以Olerup等^[13]、Bunce等^[14]文献作为参照设计HLA-DRB1*08/16等位基因的特异性引物各一对(表1)。另再设计一对人类生长因子引物(human growth factor primer, HGH)作为内参照来判断PCR反应体系是否正常。各等位基因的引物序列及人类生长因子内参序列均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2.4 PCR反应体系及反应条件: (1)反应体系为25 μ L: TaKaRa公司的Premix Taq酶12.5 μ L, DNA模板为2 μ L, 目的基因引物上、下游各0.6 μ L(浓度均为10 μ mol/L), 内参基因引物上、下游各0.2 μ L(浓度均为10 μ mol/L), ddH₂O 8.9 μ L。(2)反应条件: 预变性94 °C 3 min \rightarrow 变性94 °C 30 s, 退火具体温度及时间如表1, 延伸72 °C 1 min(35次循环) \rightarrow 末次延伸72 °C 5 min。

1.2.5 PCR产物的确定: 将PCR产物加于3%琼脂糖凝胶孔中, 置胶于0.5 \times TBE液中进行电泳, 使用凝胶成像系统仪观看结果并与Marker条带比较初步确定阳性产物。将阳性产物送上海生工生物工程有限公司进行测序, 测序结果与从NCBI GenBank检索的相应基因序列进行比对BLAST, 相似性达95%-99%, 进一步确定所扩增的产物为目的基因片段。

统计学处理 采用SPSS16.0对数据进行分析。对各等位基因的表达频率进行直接计算, 各组之间等位基因表达频率的差异用 χ^2 检验, 若理论频数 $T < 1$ 或 $1 < T < 5$ 的格子数大于总格子数的1/5时采用Fisher确切概率法算P值, 取检验水准 $\alpha = 0.05$ 。关联强度采用比值比(OR)及其95%的可信区间(95%CI)来表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HLA-DRB1*08/16的电泳结果 PCR反应的质控为: 标准阴性对照、标准阳性对照、无内参的阳性对照、无目的基因的内参照(432 bp)。Marker由DNA片段为500、400、300、200、150、100、50 bp组成共7条带。结合Marker及PCR反应的质控, 从而初步确定HLA-DRB1*08/16阳性扩增产物及阴性扩增产物(图1)。

2.2 HLA-DRB1*08/16的测序结果图 利用Chromas软件查看HLA-DRB1*08/16测序结果(图2A、B), 并将其与NCBI GenBank检索的相应基因序列进行比对BLAST确定所扩增片段分别符合HLA-DRB1*08/16等位基因(图2)。

2.3 HLA-DRB1*08/16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的频率分布比较 肝癌高发家族成员中HLA-DRB1*08/16基因频率分别6.0%(12/200)和24%(48/200); 无癌家族

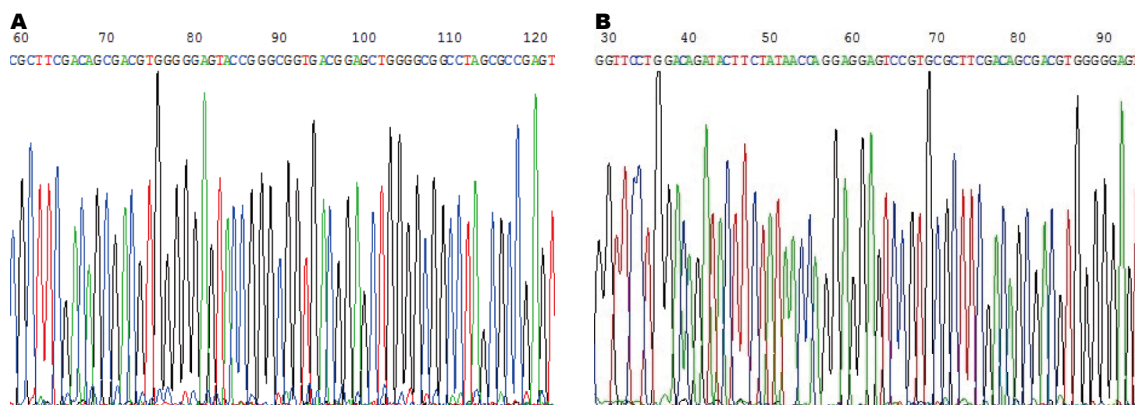


图 2 HLA-DRB1*08和HLA-DRB1*16测序结果. A: HLA-DRB1*08; B: HLA-DRB1*16.

■创新盘点

本研究非传统的病例-对照研究,通过对肝癌高发家族成员及无癌家族成员的HLA-DRB1*08/16位点的检测,研究HLA-DRB1等位基因在广西肝癌高发区肝癌家族聚集中的作用。

表 2 HLA-DRB1*08/16在肝癌高发、无癌家族组间的频率分布比较 [$n = 200, n(\%)$]

分组	HLA-DRB1*08	HLA-DRB1*16
肝癌高发家族成员	12(6.0)	48(24.0)
无癌家族成员	11(5.5)	31(15.5)
χ^2 值	0.046	4.559
P 值	0.830	0.033
OR(95%CI)	1.097(0.472-2.547)	1.722(1.042-2.844)

成员中HLA-DRB1*08/16基因频率分别为5.5%(11/200)、15.5%(31/200); HLA-DRB1*08/16在两组中的总表达频率分别是5.8%(23/400)、19.8%(79/400). 经统计学分析HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较无明显差别(表2), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较差别具有统计学意义, 肝癌家族组明显高于无癌家族组(表2).

2.4 HLA-DRB1*08/16等位基因与高发家族中患肝癌个数的关系 将肝癌高发家族成员按家族中患肝癌人数分组, 分析结果显示随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别(表3). 而HLA-DRB1*16等位基因的表达频率随着高发家族中肝癌患者人数的增加而增加(表4).

3 讨论

HLA复合体是人类多态性极其丰富的遗传系统, 其II类基因区域中尤以HLA-DRB1等位基因多态性最复杂, 且是机体免疫基因I区所在区域, 因此与免疫应答关系非常密切^[15]. 目前HLA-II类基因与肝癌相关性具体机制尚不清楚, 大多数学者^[16]认为HLA与原发性肝细胞癌的关联机制很可能是通过影响机体的肿瘤免疫反应, 使肿

瘤具有逃避免疫监视的能力来实现的. HLA-II类分子参与细胞外抗原呈递, 抗原提呈细胞提呈的HLA-II-肽复合物与CD4分子直接相结合后CD4⁺ T细胞分泌不同的细胞因子激活B淋巴细胞、CD8⁺ T淋巴细胞、NK细胞、CTL(细胞毒性T细胞)等发挥各自的效应功能共同控制肿瘤细胞的免疫应答. 遗传背景不同的HLA-II基因型个体所介导的免疫识别和激活能力及使肝癌逃避免疫监视的能力是不一样的, 与肝癌的发生可表现出促进、无关、抑制作用. 因此, 不同的HLA-II基因型家族中可表现出肝癌家族聚集或者与肝癌家族聚集无关.

HLA-II类基因与原发性肝细胞癌之间的关联已经被国内外学者进行了大量的研究报道. 埃及学者El-Chennawi等^[17]研究发现HLA-DRB1*04和DQB1*02等位基因在50例肝细胞癌患者组中的频率明显高于50例正常人对照组, 从而推测HLA-DRB1*04和DQB1*02可能为埃及人肝癌易感基因; Donaldson等^[18]认为HLA-DRB1*1501、DQA1*0102、DPB1*0503三个等位基因是香港人群肝癌的易感基因, 而DQA1*03、DQB1*0302、DPB1*0201是其人群的肝癌拮抗基因; 陈兰羽等^[19]研究上海汉族人群发现HLA-DRB1*17等位基因阳性的慢性乙型肝炎和乙型肝炎肝硬化患者容易转变为肝细胞癌; 罗双艳

■应用要点

本研究通过PCR-SSP技术检测HLA-DRB1等位基因多态性,以期寻找肝癌家族聚集的易感基因,对肝癌高发家族高发原因有待进一步深入研究。

表 3 HLA-DRB1*08表达频率与肝癌高发家族中患肝癌人数的关系 $n(\%)$

家族中患肝癌例数	n	HLA-DRB1*08		χ^2 值	P 值	OR(95%CI)
		阳性	阴性			
2-3	93	5(5.4)	88(94.6)	0.120	0.729	0.812(0.249-2.649)
≥ 4	107	7(6.5)	100(93.5)			

表 4 HLA-DRB1*16表达频率与肝癌高发家族中患肝癌人数的关系 $n(\%)$

家族中患肝癌例数	n	HLA-DRB1*16		χ^2 值	P 值	OR(95%CI)
		阳性	阴性			
2-3	93	16(17.2)	77(82.8)	4.401	0.036	0.487(0.247-0.960)
≥ 4	107	32(29.9)	75(70.1)			

等和黄爱春等^[20,21]研究发现HLA-DRB1*07及13等位基因可能是广西地区原发性肝癌的拮抗基因, HLA-DRB1*14等位基因可能是易感基因; 韩国学者Jin等^[22]发现HLA-DRB1*140101可能存在增加慢性乙型肝炎患者发展成肝癌的潜在风险。广西是全国肝癌高发区, 且存在明显的肝癌家族聚集现象。本文选择广西高频率基因HLA-DRB1*16、低频率基因HLA-DRB1*08进行研究, 探讨其与肝癌家族聚集性的关系。实验结果显示HLA-DRB1*08/16总表达频率为5.8%、19.8%, 进一步证实其为低频率及高频率基因。HLA-DRB1*08基因在肝癌高发家族成员组及无癌家族成员组的分布频率分别为6.0%、5.5%; HLA-DRB1*16基因在肝癌高发家族成员组及无癌家族成员组的分布频率分别为24%、15.5%; 经统计学分析HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较无明显差别($P = 0.830 > 0.05$), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较差别具有统计学意义($P = 0.033 < 0.05$), 肝癌家族成员组明显高于无癌家族成员组($OR = 1.722$, 95%CI: 1.042-2.844)。将肝癌高发家族成员按家族中患肝癌人数分为2-3例组、4例及以上组, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率在两组中的分别为5.4%、6.5%, HLA-DRB1*16等位基因在上述两组中的表达频率分别为17.2%、29.9%。分析结果显示随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别($P = 0.729 > 0.05$), 而HLA-DRB1*16等位基因的表达频率明显升高($P = 0.036 < 0.05$, $OR = 0.487$, 95%CI: 0.247-0.960)。以上研究结果共同表明, HLA-DRB1*08等位基因可能与广西肝癌

家族聚集无明显关系, 而HLA-DRB1*16等位基因可能与广西肝癌家族聚集有关联。

广西壮族自治区具有其独特的民族、地域特点, 本研究认为HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关, 而HLA-DRB1*08可能与其无关。然而肝癌家族聚集性相关基因可能并不是由单一位点孤立发挥作用, 可能是多个位点表现出相互协同或拮抗的作用所导致。后续研究中有必要针对HLA-DRB1等位基因扩大样本量进行更深入的研究。

致谢: 感谢万裴琦、韦柯利在本试验中给予的大力帮助。

4 参考文献

- 1 骆抗先, 陈金平, 李平. 乙型肝炎基础和临床. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 731-732
- 2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 3 McGlynn KA, London WT. The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clin Liver Dis* 2011; 15: 223-243, vii-x [PMID: 21689610 DOI: 10.1016/j.cld.2011.03.006]
- 4 米登海, 罗好曾, 陈学鹏, 张文华, 陈瑞萍. 肝癌遗传模式与危险因素病例-对照研究. *中国公共卫生* 2006; 22: 849-850
- 5 任建松, 乔友林. 原发性肝癌危险因素与预防研究进展. *中国肿瘤* 2008; 17: 293-296
- 6 杨志国, 谢裕安, 匡志鹏, 罗小玲, 张维明, 冷朝晖. 广西扶绥人群GSTM1和GSTT1基因多态性与肝癌易感性关系的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2009; 16: 970-973
- 7 吴继周, 李国坚, 陈务卿, 臧宁, 吴健林, 玉艳红, 陈茂伟, 韦颖华, 万裴琦, 胡蝶飞, 宁秋悦, 贺荣. 广西新发现肝癌高发点的初步流行病学研究. *内科* 2009; 4: 678-680
- 8 潘斌, 李伟毅. HLA多态性与疾病机制关联的研究进展. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 1157-1160
- 9 Czaja AJ, Donaldson PT. Genetic susceptibilities for immune expression and liver cell injury in autoim-

- mune hepatitis. *Immunol Rev* 2000; 174: 250-259 [PMID: 10807521]
- 10 潘尚领, 刘承武, 龙桂芳, 袁志刚, 石文, 林伟雄, 陈萍, 陈晶, 陈文成, 周小玲. 广西壮族HLA-DRB1基因的多态性及其与主要周边名族的比较. *中华微生物学和免疫学杂志* 2005; 25: 48-51
 - 11 Shi L, Huang XQ, Shi L, Tao YF, Yao YF, Yu L, Lin KQ, Yi W, Sun H, Tokunaga K, Chu JY. HLA polymorphism of the Zhuang population reflects the common HLA characteristics among Zhuang-Dong language-speaking populations. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12: 428-435 [PMID: 21634035 DOI: 10.1631/jzus.B1000285]
 - 12 韦柯利, 陈务卿, 吴继周, 吴健林, 宁秋月, 李红玉. HLA-DRB1/12/15与广西HBV相关性肝病的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2570-2575
 - 13 Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235 [PMID: 1357775]
 - 14 Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MC, Krausa P, Browning MJ, Morris PJ, Welsh KI. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* 1995; 46: 355-367 [PMID: 8838344]
 - 15 Thio CL, Thomas DL, Karacki P, Gao X, Marti D, Kaslow RA, Goedert JJ, Hilgartner M, Strathdee SA, Duggal P, O'Brien SJ, Astemborski J, Carrington M. Comprehensive analysis of class I and class II HLA antigens and chronic hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003; 77: 12083-12087 [PMID: 14581545]
 - 16 Rees RC, Mian S. Selective MHC expression in tumours modulates adaptive and innate antitumour responses. *Cancer Immunol Immunother* 1999; 48: 374-381 [PMID: 10501850]
 - 17 El-Chennawi FA, Auf FA, Metwally SS, Mosaad YM, El-Wahab MA, Tawhid ZE. HLA-class II alleles in Egyptian patients with hepatocellular carcinoma. *Immunol Invest* 2008; 37: 661-674 [PMID: 18821214 DOI: 10.1080/08820130802111605]
 - 18 Donaldson PT, Ho S, Williams R, Johnson PJ. HLA class II alleles in Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Liver* 2001; 21: 143-148 [PMID: 11318984]
 - 19 陈兰羽, 陈建杰, 章晓鹰. 上海地区汉族人群肝细胞癌与HLA-DRB1等位基因遗传易感性相关的研究. *浙江医学* 2007; 29: 305-306
 - 20 罗双艳, 李国坚, 吴健林, 吴继周, 韦颖华, 万裴琦, 黄爱春, 李兰兰. HLA-DRB1及等位基因与原发性肝癌的相关性研究. *中国现代医学杂志* 2010; 20: 2000-2003
 - 21 黄爱春, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 韦颖华, 罗双艳, 宁秋悦, 李兰兰. HLA-DRB1*14和*15等位基因与肝癌的相关性. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 420-422
 - 21 Jin YJ, Shim JH, Chung YH, Kim JA, Choi JG, Park WH, Lee D, Lee YS, Kim SE, Kim SH, Yang SH. Relationship of HLA-DRB1 alleles with hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis B patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 420-426 [PMID: 22499074 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318239f9cc]

同行评价

本文发现HLA-DRB1*16等位基因的高检出率与广西肝癌家族聚集有关. 本研究说明肝癌的发生与遗传具有一定关系.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗

李 潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普

■背景资料

胆道再次手术合并胆管癌患者因其病因、临床表现、诊断和治疗均和胆管原发疾病和既往手术史相关而具有一定特殊性。研究该类患者的临床特点有助于减少漏诊, 提高胆管癌的治疗效果。

李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

李潼, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070059

作者贡献分布: 此论题由柴新群与李潼设计; 手术由柴新群、李潼及李锦锦等操作完成; 数据分析由柴新群、吴军卫及孟元普完成; 本论文写作由李潼与柴新群完成。

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-08-18

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation

Tong Li, Xin-Qun Chai, Jin-Jin Li, Jun-Wei Wu, Yuan-Pu Meng

Tong Li, Xin-Qun Chai, Jin-Jin Li, Jun-Wei Wu, Yuan-Pu Meng, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070059

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, 1227 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-05-13 Revised: 2013-08-18

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the key points to the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation.

METHODS: The clinical data for 26 patients who underwent bile duct reoperation and were finally diagnosed with cholangiocarcinoma from November 2006 to December 2011 were retrospectively analyzed.

RESULTS: There were 15 cases of intrahepatic cholangiocarcinoma and 11 cases of extrahepatic cholangiocarcinoma. For extrahepatic cholangiocarcinomas, 5 were located around the site of biliary-enteric anastomosis, and one was located within the choledochol cyst. Fifteen patients had

cholelithiasis. Abdominal pain and obstructive jaundice were the most common symptom for intrahepatic cholangiocarcinomas and extrahepatic cholangiocarcinomas, respectively. Eight patients revealed atypical imaging findings, including inflammatory biliary strictures in 5 cases, atrophy of the liver in 2 cases and residual choledochol cyst in 1 case. Fourteen patients received en-bloc tumor resection.

CONCLUSION: Laboratory tests, imaging studies and frozen-section examinations should be combined to improve the diagnosis of cholangiocarcinomas in bile duct reoperation. The tumor and the residual lesion of the bile duct which causes the tumor should be removed completely.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile duct reoperation; Cholangiocarcinoma

Li T, Chai XQ, Li JJ, Wu JW, Meng YP. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2860-2864 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2860>

摘要

目的: 探讨胆道再次手术合并胆管癌的诊断和治疗要点。

方法: 回顾性分析2006-11/2011-12我院肝胆外科中心胆道再次手术病理确诊为胆管癌的病例26例。

结果: 肝内胆管细胞癌15例(57.7%); 肝外胆管癌11例(42.3%), 其中胆肠吻合口癌5例(45.5%), 残留胆总管囊肿继发癌变1例(9.0%)。本组26例, 15例(57.7%)同时合并有胆管结石。腹痛(93.3%)是肝内胆管癌患者最常出现的症状, 梗阻性黄疸(72.7%)是肝外胆管癌最常出现的症状。完善CT或MRI检查后, 8例(30.8%)影像学表现不典型, 其中胆管炎性狭窄5例(62.5%), 肝

■同行评议者

陈汝福, 教授, 中山大学第二附属医院肝胆胰外科;
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

叶萎缩2例(25%), 残余总管囊肿1例(12.5%)。本组共14例(53.8%)完整切除肿瘤。

结论: 胆道再次手术合并胆管癌患者需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断, 该类患者的治疗目标是完整清除肿瘤和引起肿瘤的残留病灶。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆道再次手术; 胆管癌

核心提示: 胆道再次手术合并胆管癌患者需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断, 该类患者的治疗目标是完整清除肿瘤和引起肿瘤的残留病灶。

李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普. 胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2860-2864
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2860>

0 引言

某些胆道疾病(胆管结石、胆道损伤、胆总管囊肿等)可能由于初次手术没能解决根本问题、或一段时间后结石复发而需要再次手术。由于病灶长期存在并不断刺激胆道, 导致部分患者发生胆管癌。本文回顾性分析我院2006-11/2011-12收治的胆道再次手术病理确诊为胆管癌患者的临床资料, 探讨其临床特点及诊疗要点。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院胆道再次手术病理确诊为胆管细胞癌的患者26例。其中男13例, 女13例, 年龄最小40岁, 最大80岁, 平均60.5岁±10.2岁。既往有1次手术史15例(57.7%), 2次手术史10例(38.4%), 3次及以上1例(3.8%)。胆道再次手术与上次手术间隔最短1年, 最长47年, 平均间隔17.8年±13.9年。初次手术以胆囊或胆管结石为病因共25例(96.2%), 以胆总管囊肿为病因1例(3.8%)。既往手术方式如表1。

1.2 方法 对26例患者的临床资料进行回顾性分析, 重点探讨该类患者的诊断及治疗。

2 结果

本组26例, 其中肝内胆管细胞癌15例(57.7%); 胆肠吻合口癌5例(19.2%); 肝门胆管癌3例(11.5%); 胆总管中、远段癌2例(7.7%); 残留胆总管囊肿继发癌变1例(3.8%)。同时合并有胆管结石15

例(57.7%)。肝内胆管癌与结石均位于相同肝叶。肝内胆管细胞癌患者的临床表现: 腹痛14例(93.3%)、黄疸7例(46.7%)和发热5例(33.3%)。肝外胆管细胞癌(包括胆肠吻合口癌)腹痛8例(72.7%)、黄疸8例(72.7%)、发热6例(54.5%)。本组患者均进行了CT或MRI检查, 其中有典型影像学表现18例(69.2%), 影像学表现不典型8例(30.8%)。影像学表现不典型的患者中7例肿瘤发生于肝内, 1例发生于肝外, 其不典型表现具体为肝内胆管狭窄及胆管周围脓肿5例, 肝叶萎缩2例, 残余胆总管囊肿1例, 8例患者中5例合并有胆管结石。本组共23例(88.5%)患者检测了血清CA19-9, 其值>100 U/L的有10例(38.5%), >1000 U/L 7例(26.9%)。本组肝内胆管癌手术切除率66.7%, 肝外胆管癌手术切除率36.4%。其中有1例行胰十二指肠切除术后第2天因感染性休克死亡, 该患者为残留胆总管囊肿合并胆管细胞癌。

3 讨论

3.1 胆道再次手术合并胆管癌患者的病因分析 胆管癌发生的具体原因目前还不清楚, 但是, 其相关因素包括: (1)残留胆管结石Kubo等^[1]报道, 约10%的胆管结石患者可发生胆管癌, 结石引起胆管癌的机制尚未完全阐明, 现多认为与其引起的细菌感染、机械刺激及胆汁淤积有关。本组26例, 同时合并有胆管结石15例, 占57.7%。并且, 结石与肿瘤有明显的位置相关性, 这提示胆石残留或复发是胆道再次手术患者发生胆管癌的主要原因; (2)既往行胆肠吻合术: 有关胆肠吻合术后发生胆管癌的报道较多^[2,3], 胆肠吻合术诱发胆管癌的机制多认为是该术式废弃了奥狄括约肌的抗返流功能并发生逆行性胆管炎, 长期的炎性刺激诱发了胆管癌; (3)残留胆管囊肿: 本组有1例患者为发生于残留胆总管囊肿的胆管癌。胆总管囊肿的致癌作用暂未完全阐明, 可能与胆汁淤积及胆汁与胰液合流有关^[4]。

此外, 原发性硬化性胆管炎、肝吸虫病、病毒性肝炎、化学致癌物等也是胆管癌的致病因素。多种因素可能并存并相互作用, 共同诱发胆管癌^[5,6]。

3.2 临床表现及诊断 胆道再次手术合并胆管癌患者的临床表现无特异性, 其与肿瘤的位置和胆道合并症有关。若肿瘤发生于肝内则以腹痛为主要临床表现, 发生于肝外则以梗阻性黄疸为主要表现, 若合并胆管结石或既往行胆肠吻

■研究前沿

不少学者研究了引起胆管癌的可能原因及治疗要点, 但对于胆道再次手术合并胆管癌的主要诱因及治疗却没有系统地分类研究。

■ 相关报道

目前许多报道探讨了胆管癌的治疗要点,重点是全面的术前评估,完整清除肿瘤病灶和尽量减少术后并发症的发生。

表 1 胆道再次手术合并胆管癌患者的既往手术方式

既往手术方式	n
胆囊切除	9
胆囊切除+胆道探查+T管引流	6
胆囊切除+胆总管空肠吻合	3
胆囊切除+肝门胆管空肠吻合	2
胆囊切除+胆总管十二指肠吻合	2
胆囊空肠吻合	1
胆囊切除+肝左外叶切除+左肝管空肠吻合	1
胆囊切除+左外叶切除+胆总管十二指肠吻合	1
胆囊切除+胆总管囊肿空肠吻合	1

合术则更容易发生胆管炎。Hur等^[7]曾报告,合并结石的肝内胆管细胞癌患者,其临床表现与单纯胆管结石患者无明显差异,该类患者应进行CT或MRI检查,尽量避免漏诊。

影像学检查中B超只能作为胆道再次手术合并胆管癌患者的初筛,发现可疑病灶时应行增强CT或MRI检查^[7]。然而,本组病例进行了CT或MRI检查后仍有8例(30.8%)没有典型的胆管癌影像学表现,其中表现胆管炎性狭窄5例(62.5%),肝叶萎缩2例(25%),胆总管囊肿1例(12.5%)。胆管炎性狭窄与肿瘤性狭窄的鉴别一直是诊疗的难点。虽有学者提出:狭窄胆管腔内不规则、狭窄胆管与肝实质界限不清、同侧门静脉梗塞及邻近淋巴结肿大等有助于胆管癌的鉴别^[8,9],但胆管结石合并胆管炎患者其胆管上皮可出现增生-化生-癌变的阶梯性变化,早期病灶仅局限于黏膜层或黏膜下层而难以在影像学上有所表现。此类患者只有在术中可疑病灶行冰冻快检才能提高诊断。同样,影像学检查提示为肝叶萎缩或胆总管囊肿的患者也需考虑到合并胆管癌的可能,术中应行冰冻快检,并将病灶完整切除。

血清CA19-9是最常使用的肿瘤标志物,Patel等^[10]曾报道其值>100 U/L在鉴别胆道良恶性疾病中的灵敏度为53%,特异性为76%-92%。Ong等^[11]报道CA19-9>1000 U/L对诊断胆胰恶性肿瘤的阳性预测值为93.5%,>5000 U/L可使其阳性预测值提高到96.7%。本组影像学表现不典型的患者中有4例(50%)CA19-9均>1000 U/L,对正确的术前诊断起了较大的辅助作用。然而CA19-9并不是胆管癌的特异性指标,呼吸、泌尿、风湿免疫系统的疾病、胆道炎症以及由良性疾病引起的梗阻性黄疸等均可使其值升高,部分患者甚至可>1000 U/L^[12,13]。

3.3 治疗

3.3.1 胆管结石合并胆管癌患者的治疗:合并结石的胆管细胞癌患者的治疗目标是同时清除结石和肿瘤并防止其复发。肝内胆管细胞癌合并胆管结石的患者在术前应详细了解结石的分布以及有无合并胆管狭窄、肝叶萎缩、及肝脓肿等不可逆病灶。应将不可逆病灶连同肿瘤一并切除。为减少结石复发,在残肝体积足够的情况下,切肝的范围应大于或等于结石分布的范围^[14]。本组有1例患者初次就诊时因左肝管结石行左外叶切除术,术后左内叶结石残留,再次手术时已发生左内叶胆管细胞癌。术前检查仅提示胆管狭窄或肝叶萎缩的患者应考虑到合并胆管癌的可能,此类患者应首选肝叶切除术,未切除病灶之前应避免使用胆道镜取石,因这可能使潜在的肿瘤短期内广泛转移^[15]。

合并结石的肝内胆管癌患者的治疗相对棘手,胆管炎可增加该类患者术后发生肝衰竭的风险,术前应使用敏感抗生素积极治疗,药物治疗无效时应行经皮肝穿刺胆道引流(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)^[16]。本组有1例患者因胆道感染行PTCD,该患者行联合半肝切除的肝门胆管癌根治术后恢复良好。为减少术后肝衰竭的风险,对肿瘤侵犯双侧胆管但没有肝内转移的患者可采用改良的Kasai术式,即完整切除肿瘤后将左右肝管Glisson鞘及肝门板作为吻合口的四壁与空肠作吻合^[17,18],该术式不需切肝,且引流了所有肝胆管残端胆汁,对一般情况较差的胆道再次手术患者有较高应用价值。本中心有1例患者采用该术式,其术后恢复良好。

胆总管中、远段癌合并胆管结石患者的治疗目标仍是完整清除结石和肿瘤。肿瘤浸润胰腺时应行胰十二指肠切除术。同样,合并胆管炎的患者应首先控制胆道感染,必要时先一期行经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)或PTCD引流,二期再切除肿瘤。肿瘤无法完全切除但可能存活较长时间的患者可行姑息性胆肠吻合术^[19]。

3.3.2 既往行胆肠吻合术患者的治疗:既往行胆肠吻合术的患者若发生吻合口癌或出现长期的反流性胆管炎,再手术时除了需完整切除肿瘤外还应检查或更正既往胆肠吻合方式。胆管十二指肠吻合应改为胆管空肠吻合。吻合时空肠“Y”攀应控制在40-60 cm之间,胆管末端需用可吸收线间断缝合于空肠系膜对缘,并将线结打在吻合

口外^[20]。本组有1例患者既往手术方式为胆囊空肠Roux-en-Y吻合, 就诊时出现胆囊十二指肠瘘并继发胆囊癌。Pilgrim等^[21]报道了类似病例, 并认为肠内容物返流引起的慢性胆道炎症是该类患者发生胆囊癌的主要原因。胆囊空肠吻合术主要是作为一种急诊术式被应用于全身情况较差的胆道梗阻患者, 但对于胆道良性疾病者, 由于其术后生存时间较长, 使用该术式难免日后发生反流性胆管炎并继发胆管癌。因此Thomson等^[22]建议对返流明显的患者应尽早再手术切除胆囊并重建胆道。既往行胆管空肠吻合术患者应检查“Y”攀有无梗阻、黏连、套叠; “Y”攀是否过短或过长等以尽量减少发生逆行性胆管炎的可能。不少学者研究了各种抗反流措施, 但目前均没有满意的远期效果^[23], 行胆管空肠Roux-en-Y吻合并将“Y”攀控制在合理长度是目前较为认同的抗返流措施^[20]。

3.3.3 残留胆管囊肿继发癌变的治疗: 残留胆管囊肿继发胆管癌患者应明确囊肿的分布, 肝内外病灶均需完整切除。无法切除的肝内胆管囊肿应在狭窄胆管处置留支撑管并终身随访^[24]。肝外胆管囊肿胆管的切除范围为左右肝管汇合处至胆胰管汇合处, 既往行胆肠吻合术的患者应探查有无胰腺段胆管残留, 若怀疑该段胆管癌变应附加胰十二指肠切除术。胆道感染明显的患者术前应予以胆道减压, 必要时分期手术。本组的1例患者在行胰十二指肠切除术后第二天因感染性休克死亡, 是极其深刻的教训。

总之, 胆道再次手术合并胆管癌患者临床表现不典型, 需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断。治疗时应完整清除肿瘤以及诱发肿瘤的胆管病灶。

4 参考文献

- 1 Kubo S, Kinoshita H, Hirohashi K, Hamba H. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *World J Surg* 1995; 19: 637-641 [PMID: 7676713]
- 2 Hakamada K, Sasaki M, Endoh M, Itoh T, Morita T, Konn M. Late development of bile duct cancer after sphincteroplasty: a ten- to twenty-two-year follow-up study. *Surgery* 1997; 121: 488-492 [PMID: 9142145]
- 3 Tocchi A, Mazzoni G, Liotta G, Lepre L, Cassini D, Miccini M. Late development of bile duct cancer in patients who had biliary-enteric drainage for benign disease: a follow-up study of more than 1,000 patients. *Ann Surg* 2001; 234: 210-214 [PMID: 11505067]
- 4 Ohtsuka T, Inoue K, Ohuchida J, Nabae T, Takahata S, Niiyama H, Yokohata K, Ogawa Y, Yamaguchi K, Chijiwa K, Tanaka M. Carcinoma arising in choledochocoele. *Endoscopy* 2001; 33: 614-619 [PMID: 11473335 DOI: 10.1055/s-2001-15324]
- 5 Palmer WC, Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 69-76 [PMID: 22420979 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.022]
- 6 Shin HR, Oh JK, Masuyer E, Curado MP, Bouvard V, Fang YY, Wiangnon S, Sripa B, Hong ST. Epidemiology of cholangiocarcinoma: an update focusing on risk factors. *Cancer Sci* 2010; 101: 579-585 [PMID: 20085587 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01458.x]
- 7 Hur H, Park IY, Sung GY, Lee DS, Kim W, Won JM. Intrahepatic cholangiocarcinoma associated with intrahepatic duct stones. *Asian J Surg* 2009; 32: 7-12 [PMID: 19321396 DOI: 10.1016/S1015-9584(09)60002-6]
- 8 Kim JY, Lee JM, Han JK, Kim SH, Lee JY, Choi JY, Kim SJ, Kim HJ, Kim KH, Choi BI. Contrast-enhanced MRI combined with MR cholangiopancreatography for the evaluation of patients with biliary strictures: differentiation of malignant from benign bile duct strictures. *J Magn Reson Imaging* 2007; 26: 304-312 [PMID: 17623893 DOI: 10.1002/jmri.20973]
- 9 Park HS, Lee JM, Kim SH, Jeong JY, Kim YJ, Lee KH, Choi SH, Han JK, Choi BI. CT Differentiation of cholangiocarcinoma from periductal fibrosis in patients with hepatolithiasis. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 445-453 [PMID: 16861550 DOI: 10.2214/AJR.05.0247]
- 10 Patel AH, Harnois DM, Klee GG, LaRusso NF, Gores GJ. The utility of CA 19-9 in the diagnoses of cholangiocarcinoma in patients without primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 204-207 [PMID: 10638584 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01685.x]
- 11 Ong SL, Sachdeva A, Garcea G, Gravante G, Metcalfe MS, Lloyd DM, Berry DP, Dennison AR. Elevation of carbohydrate antigen 19.9 in benign hepatobiliary conditions and its correlation with serum bilirubin concentration. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 3213-3217 [PMID: 18465243 DOI: 10.1007/s10620-008-0289-8]
- 12 Singh S, Tang SJ, Sreenarasimhaiah J, Lara LF, Siddiqui A. The clinical utility and limitations of serum carbohydrate antigen (CA19-9) as a diagnostic tool for pancreatic cancer and cholangiocarcinoma. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2491-2496 [PMID: 21516323 DOI: 10.1007/s10620-011-1709-8]
- 13 Marrelli D, Caruso S, Pedrazzani C, Neri A, Fernandes E, Marini M, Pinto E, Roviello F. CA19-9 serum levels in obstructive jaundice: clinical value in benign and malignant conditions. *Am J Surg* 2009; 198: 333-339 [PMID: 19375064 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.12.031]
- 14 Li SQ, Liang LJ, Peng BG, Hua YP, Lv MD, Fu SJ, Chen D. Outcomes of liver resection for intrahepatic stones: a comparative study of unilateral versus bilateral disease. *Ann Surg* 2012; 255: 946-953 [PMID: 22504194 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31824dedc2]
- 15 Su CH, Shyr YM, Lui WY, P'Eng FK. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Br J Surg* 1997; 84: 969-973 [PMID: 9240138]
- 16 Sano T, Shimada K, Sakamoto Y, Yamamoto J, Yamasaki S, Kosuge T. One hundred two consecutive hepatobiliary resections for perihilar cholangiocarcinoma with zero mortality. *Ann Surg* 2006; 244: 240-247 [PMID: 16858186 DOI: 10.1097/01.sla.0000217605.66519.38]

■创新盘点

本文根据胆道再次手术胆管癌的主要诱因进行分类, 重点探讨各类患者的治疗要点, 强调了对于重症患者行分期手术的必要性。

■同行评议

本文提出胆道再次手术中发现胆管癌变的可能,并对其在术前、术中的诊断及治疗方法做出深入探讨,对临床工作有一定的指导意义。

- 17 Aydin U, Yedibela S, Yazici P, Aydinli B, Zeytunlu M, Kilic M, Coker A. A new technique of biliary reconstruction after "high hilar resection" of hilar cholangiocarcinoma with tumor extension to secondary and tertiary biliary radicals. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1871-1879 [PMID: 18454297 DOI: 10.1245/s10434-008-9926-x]
- 18 Gao JB, Bai LS, Hu ZJ, Wu JW, Chai XQ. Role of Kasai procedure in surgery of hilar bile duct strictures. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4231-4234 [PMID: 22072856 DOI: 10.3748/wjg.v17.i37.4231]
- 19 Witzigmann H, Lang H, Lauer H. Guidelines for palliative surgery of cholangiocarcinoma. *HPB (Oxford)* 2008; 10: 154-160 [PMID: 18773044 DOI: 10.1080/13651820801992567]
- 20 Muraji T, Tsugawa C, Nishijima E, Satoh S, Takamizawa S, Ise K, Maekawa T. Surgical management for intractable cholangitis in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 1713-1715 [PMID: 12483638 DOI: 10.1053/jpsu.2002.36703]
- 21 Pilgrim CH, Satgunaseelan L, Ward SM, Evans PM. Gallbladder carcinoma as a long-term complication of cholecystojejunostomy. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 2330-2332 [PMID: 19370383 DOI: 10.1007/s11605-009-0879-6]
- 22 Thomson SR. Sequelae of cholecystojejunostomy for benign intrapancreatic biliary strictures. *S Afr J Surg* 1998; 36: 26-29 [PMID: 9601828]
- 23 Ogasawara Y, Yamataka A, Tsukamoto K, Okada Y, Lane GJ, Kobayashi H, Miyano T. The intussusception antireflux valve is ineffective for preventing cholangitis in biliary atresia: a prospective study. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1826-1829 [PMID: 14666478]
- 24 Ono S, Fumino S, Shimadera S, Iwai N. Long-term outcomes after hepaticojejunostomy for choledochal cyst: a 10- to 27-year follow-up. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 376-378 [PMID: 20152355 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2009.10.078]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

金益峰, 硕士, 主要从事腹部外科学的研究。

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20092131

作者贡献分布: 金益峰与周建平对此文所作贡献均等; 此课题由金益峰、周建平及张丹华设计; 董明与盛伟伟提供修改意见; 相关文献资料的收集由金益峰与张丹华完成; 相关实验操作与数据分析由金益峰与盛伟伟完成; 本论文写作由金益峰与周建平完成。

通讯作者: 周建平, 教授, 主任医师, 110000, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院普通外科。

zjphama@163.com

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: Liaoning Provincial Natural Science Foundation of China, No. 20092131

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor (KGF) protein in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC).

METHODS: The expression of KGF protein in 51 paraffin-embedded PDAC specimens and matched tumor-adjacent pancreatic tissue specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between KGF protein expression and clinicopathological characteristics of PDAC was analyzed.

RESULTS: The expression of KGF protein was significantly higher in PDAC than in matched non-cancerous pancreatic tissues ($Z = -4.766, P < 0.001$). The expression of KGF protein was positively correlated with hepatic metastasis ($\chi^2 = 4.113, P < 0.05$). Mean survival time was shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones (384 d vs 621 d).

CONCLUSION: Expression of KGF is up-regulated in PDAC. KGF up-regulation may be related with hepatic metastasis of PDAC. Mean survival time is shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Neoplasm; Pancreatic cancer; Keratinocyte growth factor; Metastasis

Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M. Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2865-2869 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2865>

摘要

目的: 探讨胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)中角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)的表达水平及临床病理学意义。

方法: 应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平, 并且观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系。

结果: 免疫组织化学结果显示: KGF在癌组织中表达明显高于配对的癌旁组织($Z = -4.766, P < 0.001$); KGF蛋白的表达与肿瘤肝转移呈正相关($\chi^2 = 4.113, P < 0.05$); 生存分析发现KGF阳性患者的平均生存时间短于表达阴性者(阳性者平均生存时间384 d, 阴性者621 d)。

结论: 在PDAC中KGF表达上调, 其表达与肿瘤肝转移呈正相关。KGF表达阳性患者生存时

■背景资料

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率有增高的趋势。而其手术切除率低, 术后复发率高, 对放疗不敏感, 预后差。至今没有有效的治疗手段及预后评价标准。近年来, 随着肿瘤微环境与肿瘤发生发展关系的相关研究不断深入, 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在肿瘤中的作用也逐步受到重视。

■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心); 谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

■ 研发前沿

KGF可以刺激不同类型肿瘤细胞的迁移和侵袭,肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关,是肿瘤转移进展的重要分子。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,而在良性前列腺增生、食管、胰腺和大肠癌组织中也有表达,但其确切作用机制仍然尚不十分明确。

间短于阴性患者。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肿瘤; 胰腺癌; 角质细胞生长因子; 转移

核心提示: 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在癌和癌旁组织中的表达程度不一。KGF阳性表达者较阴性者肝转移发生率高,生存时间短。KGF可能成为评价胰腺癌患者预后的指标及为应用于抗肿瘤靶向治疗提供新的思路。

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明. 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2865-2869
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2865>

0 引言

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种侵袭性极强的恶性肿瘤,其5年生存率<5%。PDAC不良预后常与肿瘤发现晚,不能做根治性切除有关。即使做了根治性切除,局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生。PDAC对于化疗和放疗都不敏感。另外有学者提出,胰腺癌的不良预后还与其早期就发生邻近脏器的侵犯及远处转移有关^[1,2]。

近年来,角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)对肿瘤的转移和侵袭的研究逐渐受到重视。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,提示其可能与肿瘤的发生发展及预后有关。而在国内外与胰腺癌相关的研究报道较少见。本文采用免疫组织化学方法,探讨KGF在胰腺癌中的表达及其临床病理学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-01/2012-12我院具有完整临床资料的PDAC手术切除标本51例,均有癌旁组织作为对照。51例患者术后病理证实为原发性管状腺癌,均有完整的随访资料。KGF羊抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司。SP法免疫组织化学试剂盒、DAB显色液购自福州迈新公司。蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、上样缓冲液、BCA定量及ECL发光试剂盒均购自上海碧云天生物公司。

1.2 方法 采用免疫组织化学SP法。所有组织标本均经40 g/L甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,以二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。PBS清

洗后,置于pH 6.0的柠檬酸缓冲液121 °C高压热抗原修复2 min 20 s,自然冷却。3%过氧化氢室温15 min去除内源性过氧化酶。血清室温封闭20 min后滴加一抗,4 °C孵育过夜。次日复温45 min,依次滴加二抗及霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶37 °C 15 min, PBS清洗, DAB显色,苏木素复染。盐酸乙醇分化后常规脱水、透明,封片后于光学显微镜下观察结果。免疫组织化学结果评估:参考Masunaga^[3]文献评分方法:两个独立观察者分别进行评分:(1)染色强度:无着色0分;浅黄色1分;黄或深黄色2分;褐或棕褐色3分。(2)阳性细胞数:计算阳性细胞所占视野面积的平均百分数分为5级:无阳性细胞0%为0分;阳性细胞数1%-25%为1分;26%-50%为2分;51%-75%为3分;>76%为4分,上述两项之和为分级标准:>2分定义为阳性。

统计学方法 采用SPSS19统计软件,癌与癌旁组织KGF表达比较采用Wilcoxon符号秩和检验。不同临床病理学参数患者的KGF蛋白表达比较采用 χ^2 检验。采用Kaplan-Meier和Log-rank检验分析随访资料。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 KGF在胰腺癌和癌旁组织中表达 KGF在癌组织中的表达明显高于配对的癌旁组织($Z = -4.766$, $P<0.001$)。在51例胰腺癌组织中, KGF有17例(33.3%)呈阳性表达,而在癌旁组织中并没有看到达到阳性评价标准的染色。KGF蛋白表达于肿瘤细胞胞浆内,在胰岛、腺泡及纤维间质细胞中未见阳性表达(图1)。

2.2 KGF蛋白表达与胰腺癌患者临床病理学参数的关系 通过卡方检验,有无肝转移PDAC患者的KGF的表达差异有统计学意义($\chi^2 = 4.113$, $P = 0.043$),而KGF表达阳性与否和肿瘤肝转移呈正相关;不同性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况以及TNM分期等患者的KGF蛋白的表达差异无统计学意义(表1)。

2.3 Kaplan-Meier生存分析 本组患者平均随访时间428 d,最短30 d,最长1297 d。KGF表达阳性PDAC患者平均生存时间384 d,中位生存时间380 d,阴性者平均生存时间621 d,中位生存时间432 d。KGF表达阴性PDAC患者的生存时间明显长于表达阳性的患者,但是二者差异无统计学意义($P = 0.108$)(图2)。

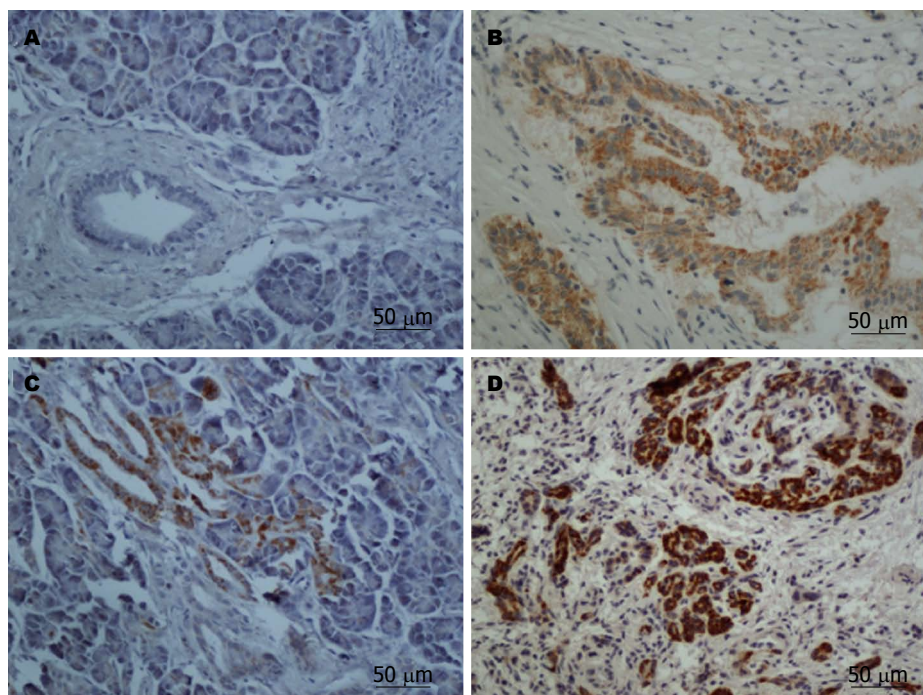


图 1 KGF在癌和癌旁的表达水平. A, C: KGF在癌旁组织中的表达, 腺泡及胰岛细胞中未见明显表达, 仅有极少导管有未达评价标准的表达; B, D: KGF在PDAC中的表达, 在癌组织中表达于细胞浆内, 且表达水平存在差异.

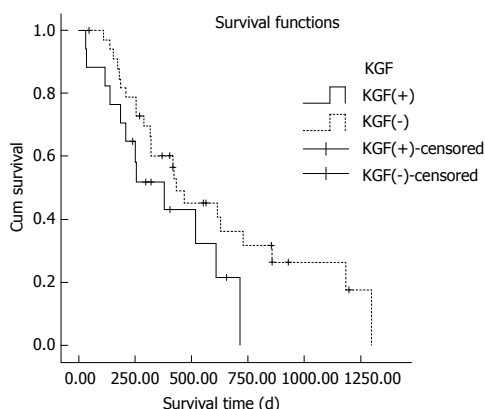


图 2 Cumulative Kaplan-Meier生存曲线. KGF: 角质细胞生长因子.

3 讨论

角质细胞生长因子首次于1989年由Rubin等^[4]从人胚胎肺成纤维细胞的培养液中提纯出来的单链多肽, 其分子量为26-28 kDa. 他是肝素结合相关生长因子-成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族中的一员, 又被称作FGF-7, 并且与其他FGF家族成员有30%-70%氨基酸序列同源. 他的生物学作用主要通过与其特异性受体KGFR的结合. KGFR具有潜在的酪氨酸激酶活性, 能够以高亲和力与KGF和aFGF结合. KGFR的细胞外区域由2或3个免疫球蛋白样区域组成, 而细胞内区域由非激酶插入序列

■ 相关报道

PDAC是一种侵袭性极强的恶性肿瘤, 其5年生存率<5%. PDAC不良预后常与早期诊断困难, 肿瘤发现晚有关. 即使根治性手术, 术后的局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生. 而且PDAC对于化疗和放疗都不敏感. KGF是肿瘤转移进展的重要分子, 而且KGF及其受体在多种上皮组织来源的肿瘤细胞系中均有发现.

阻断的酪氨酸激酶区域组成^[5]. KGF首先在人胚胎肺的成纤维细胞中发现, 表达于多种组织来源的间质细胞中, 包括乳腺、肺、前列腺、胰腺和消化系等^[6-9]. 当KGF与其受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR)特异性结合后可促进上皮细胞DNA的合成、增殖和迁移, 并且与创伤修复、胚胎发育及肿瘤发生关系密切^[10-13]. KGF可以刺激不同类型上皮来源肿瘤细胞的迁移和侵袭, 表明肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关, 是肿瘤转移进展的重要分子^[14-17].

国外文献报道, KGFR mRNA和KGF在人胰腺癌细胞系中有表达. 不仅如此, KGF可以诱导某些胰腺癌细胞的增殖及迁移等^[18,19]. 这些研究结果提示KGFR和KGF的协同表达, 与胰腺癌的恶性程度有重要关系. 为了更直白地反应角质细胞生长因子蛋白的表达与胰腺癌的关系, 我们通过免疫组织化学检测KGF在PDAC中表达情况并观察其结果与PDAC患者的临床病理表现是否有关联. 在本研究中, 我们发现51例胰腺癌组织中有33.3%的样本KGF表达呈阳性. 而国外报道在癌旁组织的胰岛、腺泡及纤维间质细胞中KGF呈中等至高表达^[20], 在本实验结果中并未得到证实. 并且我们发现KGF蛋白的表达与患者肝转移呈正相关, 而与年龄、性别及肿瘤

■创新盘点

本文应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平,同时观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系,并通过统计学方法进行分析,直观地反应了KGF与胰腺癌患者生存时间及预后因素之间的关系。

表 1 KGF表达与PDAC患者临床病理学参数关系

项目	n	KGF表达		P值
		KGF(+)	KGF(-)	
n	51	17	34	
年龄(岁)				0.484
< 65	39	12	27	
≥65	12	5	7	
性别				0.534
男	33	10	23	
女	18	7	11	
肿瘤部位				0.192
胰头部	36	14	22	
胰体尾部	15	3	12	
肿瘤大小(cm)				0.691
< 2.5	23	7	16	
≥2.5	28	10	18	
分化程度				0.693
低分化	2	1	1	
中分化	27	8	19	
高分化	22	8	14	
浸润深度				0.82
T1+T2	13	4	9	
T3+T4	38	13	25	
淋巴结转移				0.81
N0(阴性)	40	13	27	
N1(阳性)	11	4	7	
TNM分期 ^a				0.834
I + II A	34	11	23	
II B+IV	17	6	11	
肝转移				0.043
无	31	7	24	
有	20	10	10	

^aTNM分期根据2008年UICC指南。KGF: 角质细胞生长因子; PDAC: 胰腺导管腺癌。

大小等无关,这与国外文献报道相一致^[21]。此外,国外尚有研究报道KGF蛋白的表达与PDAC的血管浸润密切相关^[22],但由于本组临床病理资料在血管浸润方面有缺失,未做统计学分析。

Cho等^[22]通过随访进一步证实,KGF蛋白的表达与胰腺癌患者预后呈正相关。本研究生存分析结果虽然KGF是否表达与患者生存时间之间的关系未达统计学意义($P = 0.108$),但趋势表明KGF蛋白表达阳性患者的总体生存时间短于KGF表达阴性者。随访结果不完善、样本量小或人种之间差异可能是导致此结果的主要原因。后期研究可通过增加样本量,完善随访调查来进一步明确KGF蛋白表达与肿瘤预后的关系。

总之,我们提出假设,KGF表达可能可以作为评估PDAC患者预后的一个指标。

本研究中,我们已经强调了KGF蛋白表达与肿瘤临床病理表现的关系。但是本实验没有通过体内及体外实验进一步验证KGF对肿瘤生物学功能产生的影响。近年来国外体内及体外研究发现,针对KGF/KGFR通路的抑制剂在一定程度上可抑制肿瘤进展。目前针对KGF信号通路的研究正在不断深入,其有望成为新的胰腺癌治疗靶点^[21,23]。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 897-909 [PMID: 12459728 DOI: 10.1038/nrc949]
- 3 Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S, Yoshimura H, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4064-4068 [PMID: 11051257]
- 4 Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 802-806 [PMID: 2915979 DOI: 10.1073/pnas.86.3.802]
- 5 Miki T, Bottaro DP, Fleming TP, Smith CL, Burgess WH, Chan AM, Aaronson SA. Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing: two distinct growth factor receptors encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 246-250 [PMID: 1309608 DOI: 10.1073/pnas.89.1.246]
- 6 Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M, Miki T, Ron D, Cunha GR, Finch PW. Keratinocyte growth factor as a cytokine that mediates mesenchymal-epithelial interaction. *EXS* 1995; 74: 191-214 [PMID: 8527895 DOI: 10.1007/978-3-0348-9070-0_10]
- 7 Lendvay TS, Sweet R, Han CH, Soygur T, Cheng JF, Plaire JC, Charleston JS, Charleston LB, Bagai S, Cochrane K, Rubio E, Bassuk JA. Compensatory paracrine mechanisms that define the urothelial response to injury in partial bladder outlet obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1147-F1156 [PMID: 17609292 DOI: 10.1152/ajprenal.00006.2007]
- 8 Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 179-186 [PMID: 15863033 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2005.01.003]
- 9 Pedchenko VK, Imagawa W. Pattern of expression of the KGF receptor and its ligands KGF and FGF-10 during postnatal mouse mammary gland development. *Mol Reprod Dev* 2000; 56: 441-447 [PMID: 10911393 DOI: 10.1002/1098-2795(200008)56:4<441::AID-MRD1>3.0.CO;2-C]
- 10 Bates CM. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F245-F251 [PMID: 21613421 DOI: 10.1152/ajprenal.00186.2011]

- 11 Mondrinos MJ, Koutzaki S, Lelkes PI, Finck CM. A tissue-engineered model of fetal distal lung tissue. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L639-L650 [PMID: 17526596 DOI: 10.1152/ajplung.00403.2006]
- 12 Yamayoshi T, Nagayasu T, Matsumoto K, Abo T, Hishikawa Y, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7 and its receptor in human lung cancer: correlation with tumour proliferative activity and patient prognosis. *J Pathol* 2004; 204: 110-118 [PMID: 15307144 DOI: 10.1002/path.1617]
- 13 Gomperts BN, Belperio JA, Fishbein MC, Keane MP, Burdick MD, Strieter RM. Keratinocyte growth factor improves repair in the injured tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 48-56 [PMID: 17332441 DOI: 10.1165/rcmb.2006-0384OC]
- 14 Jenq RR, King CG, Volk C, Suh D, Smith OM, Rao UK, Yim NL, Holland AM, Lu SX, Zakrzewski JL, Goldberg GL, Diab A, Alpdogan O, Penack O, Na IK, Kappel LW, Wolchok JD, Houghton AN, Perales MA, van den Brink MR. Keratinocyte growth factor enhances DNA plasmid tumor vaccine responses after murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009; 113: 1574-1580 [PMID: 19011222 DOI: 10.1182/blood-2008-05-155697]
- 15 Hishikawa Y, Tamaru N, Ejima K, Hayashi T, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human breast cancer: its inhibitory role in the induction of apoptosis possibly through the overexpression of Bcl-2. *Arch Histol Cytol* 2004; 67: 455-464 [PMID: 15781986 DOI: 10.1679/aohc.67.455]
- 16 Shin EY, Ma EK, Kim CK, Kwak SJ, Kim EG. Src/ERK but not phospholipase D is involved in keratinocyte growth factor-stimulated secretion of matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in SNU-16 human stomach cancer cell. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 596-602 [PMID: 12458339 DOI: 10.1007/s00432-002-0388-4]
- 17 Narita K, Fujii T, Ishiwata T, Yamamoto T, Kawamoto Y, Kawahara K, Nakazawa N, Naito Z. Keratinocyte growth factor induces vascular endothelial growth factor-A expression in colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 355-360 [PMID: 19148469]
- 18 Siddiqi I, Funatomi H, Kobrin MS, Friess H, Büchler MW, Korc M. Increased expression of keratinocyte growth factor in human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 309-315 [PMID: 7575607 DOI: 10.1006/bbrc.1995.2467]
- 19 Zang XP, Lerner M, Brackett D, Pento JT. Influence of KGF on the progression of pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 3417-3420 [PMID: 19661366]
- 20 Ishiwata T, Friess H, Büchler MW, Lopez ME, Korc M. Characterization of keratinocyte growth factor and receptor expression in human pancreatic cancer. *Am J Pathol* 1998; 153: 213-222 [PMID: 9665482 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65562-9]
- 21 Cho K, Matsuda Y, Ueda J, Uchida E, Naito Z, Ishiwata T. Keratinocyte growth factor induces matrix metalloproteinase-9 expression and correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2012; 40: 1040-1048 [PMID: 22159401]
- 22 Cho K, Ishiwata T, Uchida E, Nakazawa N, Korc M, Naito Z, Tajiri T. Enhanced expression of keratinocyte growth factor and its receptor correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Am J Pathol* 2007; 170: 1964-1974 [PMID: 17525264 DOI: 10.2353/ajpath.2007.060935]
- 23 Mehta M, Kesinger JW, Zang XP, Lerner ML, Brackett DJ, Brueggemeier RW, Li PK, Pento JT. Influence of novel KGFR tyrosine kinase inhibitors on KGF-mediated proliferation of breast cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 4883-4889 [PMID: 21187466]

■同行评价

本文具有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠癌*AREG*基因的表达与甲基化水平

吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿

■背景资料

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 近年来由于环境、水源污染以及人们饮食结构的改变等原因, 其发病率逐渐上升, 已成为我国发病率增长最快的恶性肿瘤。结直肠癌治疗预后不佳, 严重影响患者生活质量。从分子遗传水平探究结直肠癌发病机制, 确定分子治疗靶标已成为现在基础研究工作重点。

吴涛, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿, 大连医科大学附属第二医院 辽宁省大连市 116027

赵滢, 中国医科大学附属盛京医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110004

吴涛, 副教授, 主要从事消化系统恶性肿瘤综合治疗。

辽宁省教育基金资助项目, No. L2012295

作者贡献分布: 吴涛与赵丹懿设计实验; 赵滢与赵丹懿提供试剂; 具体实验由吴涛、李丹、何红梅、李娜及张阳完成。

通讯作者: 赵丹懿, 主治医师, 116027, 辽宁省大连市沙河口区中山路465号, 大连医科大学附属第二医院。zhaodany1978@163.com

收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Expression and promoter methylation of *AREG* in colorectal neoplasms

Tao Wu, Ying Zhao, Dan Li, Hong-Mei He, Na Li, Yang Zhang, Dan-Yi Zhao

Tao Wu, Dan Li, Hong-Mei He, Na Li, Yang Zhang, Dan-Yi Zhao, Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116207, Liaoning Province, China

Ying Zhao, Department of Gastrointestinal Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Dan-Yi Zhao, Attending Physician, Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 465 Zhongshan Road, Shahekou District, Dalian 116207, Liaoning Province, China

Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression and promoter methylation of amphiregulin (*AREG*) in colorectal neoplasms.

METHODS: The expression of *AREG* mRNA was detected by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) in 145 cases of colorectal neoplasms and matched normal colorectal tissues. The promoter methylation status of *AREG* in the above specimens was detected using methylation-specific polymerase chain reaction (MSP).

RESULTS: Overexpression of *AREG* was found in colorectal neoplasms compared with normal colorectal tissues. The rate of *AREG* gene pro-

moter methylation was significantly lower in colorectal neoplasms than in normal colorectal tissues (11.5% vs 67.7%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Higher expression of *AREG* has a significant correlation with patient age and tumor differentiation degree. Promoter demethylation may play an important role in *AREG* overexpression in colorectal neoplasms.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal neoplasms; *AREG*; qRT-PCR; Methylation-specific polymerase chain reaction

Wu T, Zhao Y, Li D, He HM, Li N, Zhang Y, Zhao DY. Expression and promoter methylation of *AREG* in colorectal neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2870-2874 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2870>

摘要

目的: 检测双调蛋白(amphiregulin, *AREG*)在结直肠癌组织中的表达水平及其启动子区甲基化水平, 分析*AREG*基因与结直肠癌发生发展的关系, 以探讨其在结直肠癌诊断治疗中的意义。

方法: 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)技术检测基因在145例结直肠癌组织及145例癌旁正常组织中的表达; 甲基化特异性聚合酶链反应(methylation-specific polymerase chain reaction, MSP)技术检测*AREG*基因启动子区甲基化水平。

结果: *AREG*基因在癌组织与正常组织中的相对表达量分别为 (2.214 ± 0.802) 和 (0.834 ± 0.356) , 癌组织与正常组织的表达水平差异显著, *AREG*的高表达与患者年龄及肿瘤的分化程度密切相关($P < 0.05$)。甲基化特异性PCR结果显示癌组织基因启动子区甲基化发生率(11.7%), 明显低于正常组织甲基化发生率(67.6%)。

结论: *AREG*基因的高表达与结直肠癌患者的

■同行评议者

陆云飞, 教授, 广西医科大学第一附属医院

年龄及肿瘤细胞分化程度密切相关, 其高表达可能与启动子区去甲基化有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; *AREG*; qRT-PCR; MSP

核心提示: *AREG*基因可作为结直肠癌的一个候选检测靶点, 检测*AREG*基因的表达可作为判断结直肠癌恶性分化程度高低的有价值的指标之一, 进一步明确其作用机制能为结直肠癌治疗提供新的方向。

吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿. 结直肠癌*AREG*基因的表达与甲基化水平. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2870-2874 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2870>

0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 近年来由于环境、水源污染以及人们饮食结构的改变等原因, 其发病率逐渐上升^[1], 已成为我国发病率增长最快的恶性肿瘤^[2]. 结直肠癌治疗预后不佳, 严重影响患者生活质量. 从分子遗传水平探究结直肠癌发病机制, 确定分子治疗靶标已成为现在基础研究工作重点。

双调蛋白(amphiregulin, *AREG*)基因定位于4号染色体长臂, 所编码双调蛋白是表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)家族的成员^[3], 是一种自分泌生长因子, 同时也是星型胶质细胞、雪旺细胞以及成纤维细胞的促分裂素. *AREG*蛋白参与肿瘤细胞复制、侵袭以及凋亡抑制等过程, 本文探讨*AREG*基因在结直肠癌中的表达, 并进一步揭示其与肿瘤发生发展的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院胃肠外科2006-01/2012-09外科手术切除的原发性结直肠癌手术标本145例, 其中男性83例, 女性62例, 年龄42-85岁(62岁±10.23岁), 所有病例术前均未行放疗或化疗, 术后经病理确诊, 详细病理资料如表1. 同时收集距肿瘤边缘>5 cm的145例癌旁正常组织作为对照. RNA提取TRIzol试剂为Invitrogen公司产品, RNA提取试剂盒及DNA提取试剂盒均购自天根生化科技公司, 逆转录试剂盒及SYBR premix购自大连TaKaRa公司, 引物序列由上海生物工程有限公司合成; EZ DNA甲基化修饰试剂盒(Zymo Research, 美国), 亚硫酸氢盐修饰的通用

表 1 结直肠癌患者病理资料 (n)

病理参数	n	病理参数	n
性别		分化程度	
男	83	高分化	25
女	62	中高分化	58
年龄(岁)		低中分化	62
<60	57	转移情况	
≥60	88	淋巴结转移	52
肿瘤直径(cm)		无淋巴结转移	93
<5	81	远处转移	39
≥5	64	无远处转移	106

人类甲基化DNA标准(Bisulfite Converted Universal Methylated Human DNA Standard)(Zymo Research 美国)用作阳性对照, 以经亚硫酸氢盐修饰的人外周血淋巴细胞DNA作为甲基化阴性对照. qPCR仪(ABI公司 7500 Fast Real-Time PCR系统), 普通PCR仪(ABI公司 2720热循环仪)凝胶成像分析系统(GelDoc-It TS Imaging System UVP公司)。

1.2 方法

1.2.1 组织RNA及DNA提取: 依照试剂盒操作步骤进行RNA及DNA的提取, 提取过程中防止样品的污染和降解, RNA提取全程在冰上操作, 提取样品于-80℃保存, DNA样品于-20℃保存, 通过紫外分光光度仪测定所提取核酸浓度和纯度。

1.2.2 逆转录及定量PCR: 本实验采用比较Ct值的相对定量法, 以GAPDH为管家基因, 应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行分析. 定量PCR反应体系(25 μL): SYBR premix(2×)12.5 μL, 目的基因上、下游引物各0.5 μL, cDNA模板2.0 μL, ddH₂O 9.5 μL, 反应条件: 95℃预变性5 min, 95℃ 15 s, 59℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40个循环。

1.2.3 甲基化特异性聚合酶链反应(methylation-specific polymerase chain reaction, MSP): EZ甲基化修饰试剂盒对500 ng组织DNA行亚硫酸氢盐修饰, 修饰后的DNA样本洗脱后立即使用或-80℃保存待用. MSP参照Herman等^[4]方法, 每个MSP反应需20 ng修饰的DNA样本作为模板, 引物序列如表2, 反应体系(20 μL): 10 μL Hot Start PCR Master Mix, 20 ng DNA模板, 上下游引物各10 pmol. 反应条件: 95℃变性1 min, 62℃退火1 min, 72℃延伸1 min. 每例样品设3个对照: 甲基化阳性、阴性对照以及水作为空白对照. 取8 μL扩增产物于2%含溴化乙锭琼脂糖凝胶上电泳,

■创新盘点

本文对比了结直肠癌患者组和癌旁正常组织的*AREG*基因表达情况, 结果显示患者组的*AREG*基因表达水平明显高于癌旁正常组织。

■同行评价

本研究设计合理,实验方法规范,结果可信,对了解*AREG*基因与结直肠癌的关系具有一定参考意义。

表 2 qRT-PCR及MSP所需引物

引物名称	上游引物	下游引物	Tm(°C)
<i>AREG(RT)</i>	TGGATTGGACCTCAATGACA	AGCCAGGTATTTGTGGTTCG	59.5
<i>GAPDH</i>	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	TTGATTTTGGAGGGATCTCG	60
<i>AREG(MSP)</i>			
<i>AREG-M</i>	CGGCGTATATTTTCGGTTTTATTC	GTCTCGATCTCTAAAACAACCTCGAT	62
<i>AREG-U</i>	GAGAGTGGTGTATATTTTGGTTTTATTT	ATCTCAATCTCTAAAACAACCTCAAT	62

表 3 *AREG*表达与结直肠癌临床病理参数的关系

病理参数	<i>n</i>	<i>AREG</i> 表达量	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.034
<60	57	1.873 ± 0.973	
≥60	88	2.842 ± 1.212	
分化程度			0.021
高分化	25	3.023 ± 1.423	
中高分化	58	2.634 ± 1.103	
低中分化	62	1.843 ± 1.434	

两组样本采用Wilcoxon秩和检验,多种间采用H检验。

紫外光下凝胶拍照,分析。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件,计数资料用百分比表示,计量资料以mean±SD表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *AREG*在结直肠癌中表达结果 *AREG*基因与管家基因扩增产物特异,无引物二聚体或其他非特异性产物,根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算得出,*AREG*在结直肠癌组织和正常组织中的相对表达量分别为 2.214 ± 0.802 和 0.834 ± 0.356 ,差异具有统计学意义($P<0.05$,图1)。

2.2 *AREG*基因表达与结直肠癌临床病理参数的关系 结直肠癌145例患者*AREG*表达水平与肿瘤病理参数分析结果显示,基因的高表达与患者年龄及肿瘤分化水平密切相关,具有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.3 *AREG*启动子区甲基化检测结果 癌旁正常组织共有98例出现甲基化,占67.6%,结直肠癌患者组甲基化17例,占11.7%。正常组与患者组差异具统计学意义(表4,图2)。

2.4 *AREG*启动子区甲基化与基因表达的关系 依据启动子区甲基化情况将癌组织及癌旁正常组织再次进行分组,分为甲基化组和非甲基化组,研究其表达情况(表4),癌组织及癌旁正常组织

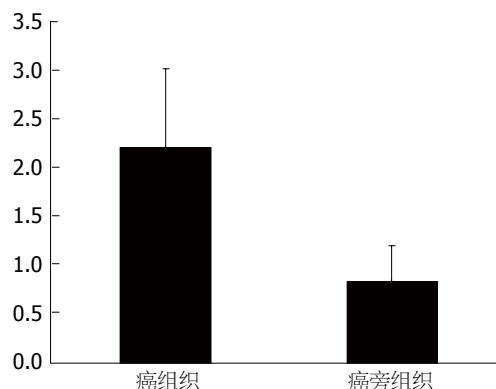


图 1 *AREG*基因在癌组织及癌旁正常组织中表达情况。

分析结果均显示,甲基化水平与基因表达具有相关性($P<0.05$)。

3 讨论

随着分子遗传学理论的发展及分子生物学检测手段的进步,人们对恶性肿瘤的发生发展有了更深层次的认识。染色体畸形、癌基因突变或扩增激活、抑癌基因失活等一系列改变在肿瘤形成发展过程中起到了非常重要的作用^[5,6]。外界环境因素以及体内大量微效基因的共同作用组成了结直肠癌的形成机制。

*AREG*基因定位于人类4号染色体长臂,编码双调蛋白是表皮生长因子EGF家族成员之一。研究发现,*AREG*基因在肿瘤组织中高表达,而在正常组织中低表达甚至不表达^[7,8]。*AREG*被认为是一种双官能的生长调节糖蛋白,可以激活成纤维细胞的增殖,同时又能抑制神经母细胞瘤和其他腺瘤细胞系的生长^[9]。在不同的生物学条件下,*AREG*既可以激活肺癌的增殖又可以抑制肺癌细胞的增殖^[10]。目前未见*AREG*基因表达及表观遗传学改变与结直肠癌相关性方面的报道,本研究从表达及甲基化水平初步阐释*AREG*基因与结直肠癌的关系。

表观遗传学不涉及遗传物质一级结构即核苷酸序列的改变,常见的表观遗传学改变如甲

表 4 癌组织和癌旁正常组织

	甲基化		非甲基化		P值
	n(%)	表达量	n(%)	表达量	
癌组织	17(11.7)	1.232 ± 0.984	128(88.3)	2.475 ± 1.257	0.031
癌旁正常组织	98(67.6)	1.326 ± 1.034	47(32.4)	2.501 ± 1.385	0.027

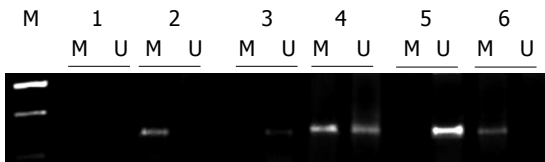


图 2 AREG启动子区甲基化检测结果. M: marker; 1: 以水为模板空白对照; 2: 甲基化阳性对照; 3: 甲基化阴性对照; 4: 部分甲基化; 5: 未甲基化; 6: 完全甲基化.

甲基化通过对基因启动子区CpG岛的修饰, 从而达到调节基因表达的目的, 大量研究表明, 甲基化在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[11]. 研究发现, 相关基因的甲基化在结直肠癌发生发展中起到重要作用^[12,13].

本研究对比了结直肠癌患者组和癌旁正常组织的AREG基因表达情况, 结果显示患者组的AREG基因表达水平明显高于癌旁正常组织, 差异具统计学意义, 本研究结果与研究者在其他肿瘤中所得出结果相一致^[14-16]. 更高的年龄和肿瘤细胞分化程度的患者, 其表达水平相应也更高, 说明AREG基因在结直肠癌中与肿瘤的增殖、分化有着密切的关系, 其作用机制可能包括产生细胞增殖信号、激活细胞无限增殖潜力、增加肿瘤细胞组织侵袭力和转移能力以及血管生成、抑制细胞凋亡等方面.

甲基化水平研究结果提示, 启动子区的去甲基化可能是AREG基因高表达的一个重要原因, 可能存在上游调节因子影响基因的甲基化水平, 去甲基化原因可作为后续研究来阐明AREG基因作用机制.

总之, AREG基因可作为结直肠癌的一个候选检测靶点, 检测AREG基因的表达可作为判断结直肠癌恶性分化程度高低的有价值的指标之一, 进一步明确其作用机制能为结直肠癌治疗提供新的方向.

4 参考文献

- 1 Yeoh KG, Ho KY, Chiu HM, Zhu F, Ching JY, Wu DC, Matsuda T, Byeon JS, Lee SK, Goh KL, Sollano J, Rerknimitr R, Leong R, Tsoi K, Lin JT, Sung JJ.

The Asia-Pacific Colorectal Screening score: a validated tool that stratifies risk for colorectal advanced neoplasia in asymptomatic Asian subjects. *Gut* 2011; 60: 1236-1241 [PMID: 21402615 DOI: 10.1136/gut.2010.221168]

- 2 Yang L, Parkin DM, Li L, Chen Y. Time trends in cancer mortality in China: 1987-1999. *Int J Cancer* 2003; 106: 771-783 [PMID: 12866039]
- 3 Ohchi T, Akagi Y, Kinugasa T, Kakuma T, Kawahara A, Sasatomi T, Gotanda Y, Yamaguchi K, Tanaka N, Ishibashi Y, Miyamoto S, Kage M, Shirouzu K. Amphiregulin is a prognostic factor in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2012; 32: 2315-2321 [PMID: 22641668]
- 4 Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821-9826 [PMID: 8790415]
- 5 Downing JR. Cancer genomes--continuing progress. *N Engl J Med* 2009; 361: 1111-1112 [PMID: 19657111 DOI: 10.1056/NEJMe0906090]
- 6 Pollard PJ, Ratcliffe PJ. Cancer. Puzzling patterns of predisposition. *Science* 2009; 324: 192-194 [PMID: 19359573 DOI: 10.1126/science.1173362]
- 7 Castillo J, Erroba E, Perugorria MJ, Santamaría M, Lee DC, Prieto J, Avila MA, Berasain C. Amphiregulin contributes to the transformed phenotype of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2006; 66: 6129-6138 [PMID: 16778186]
- 8 Plowman GD, Green JM, McDonald VL, Neubauer MG, Distech CM, Todaro GJ, Shoyab M. The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1969-1981 [PMID: 2325643]
- 9 Shoyab M, McDonald VL, Bradley JG, Todaro GJ. Amphiregulin: a bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 6528-6532 [PMID: 3413110]
- 10 Mallakin A, Sugiyama T, Kai F, Taneja P, Kendig RD, Frazier DP, Maglic D, Matise LA, Willingham MC, Inoue K. The Arf-inducing transcription factor Dmp1 encodes a transcriptional activator of amphiregulin, thrombospondin-1, JunB and Egr1. *Int J Cancer* 2010; 126: 1403-1416 [PMID: 19816943 DOI: 10.1002/ijc.24938]
- 11 Suvà ML, Riggi N, Bernstein BE. Epigenetic reprogramming in cancer. *Science* 2013; 339: 1567-1570 [PMID: 23539597 DOI: 10.1126/science.1230184]
- 12 Prabhu JS, Korlimarla A, Banerjee A, Wani S, K P, Sahoo R. Gene-specific methylation: potential markers for colorectal cancer. *Int J Biol Markers* 2009; 24: 57-62 [PMID: 19404924]
- 13 Liu Y, Tham CK, Ong SY, Ho KS, Lim JF, Chew MH, Lim CK, Zhao Y, Tang CL, Eu KW. Serum methylation levels of TAC1, SEPT9 and EYA4 as di-

- agnostic markers for early colorectal cancers: a pilot study. *Biomarkers* 2013; 18: 399-405 [PMID: 23862763 DOI: 10.3109/1354750X.2013.798745]
- 14 Busser B, Sancey L, Josserand V, Niang C, Favrot MC, Coll JL, Hurbini A. Amphiregulin promotes BAX inhibition and resistance to gefitinib in non-small-cell lung cancers. *Mol Ther* 2010; 18: 528-535 [PMID: 19826406 DOI: 10.1038/mt.2009.226]
- 15 Ahn EY, Kim JS, Kim GJ, Park YN. RASSF1A-mediated regulation of AREG via the Hippo pathway in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Res* 2013; 11: 748-758 [PMID: 23594797 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0665]
- 16 Tinhofer I, Klinghammer K, Weichert W, Knödler M, Stenzinger A, Gauler T, Budach V, Keilholz U. Expression of amphiregulin and EGFRvIII affect outcome of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck receiving cetuximab-docetaxel treatment. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5197-5204 [PMID: 21653686 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3338]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响

张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘 博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁

张丽静, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁, 河北医科大学第一医院普外科 河北省石家庄市 050031
吴晨鹏, 张志勇, 唐山市工人医院病理科 河北省唐山市 063000

张丽静, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072034

作者贡献分布: 张丽静与吴晨鹏对此文所作贡献均等; 此课题由张丽静与赵增仁设计; 研究过程由吴晨鹏、刘博及樊智彬操作完成; 研究所用试剂及分析工具由赵增仁提供; 临床病理资料由张志勇与裴永彬提供; 数据分析由张丽静完成; 本论文写作由张丽静、吴晨鹏及赵增仁完成。

通讯作者: 赵增仁, 教授, 050031, 河北省石家庄市东岗路, 河北医科大学第一医院普外科, zzz-doctor@163.com

电话: 0311-85917006

收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation

Li-Jing Zhang, Chen-Peng Wu, Zhi-Yong Zhang, Bo Liu, Zhi-Bin Fan, Yong-Bin Pei, Zeng-Ren Zhao

Li-Jing Zhang, Bo Liu, Zhi-Bin Fan, Yong-Bin Pei, Zeng-Ren Zhao, Department of General Surgery, First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China

Chen-Peng Wu, Zhi-Yong Zhang, Department of Pathology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Zeng-Ren Zhao, Professor, Department of General Surgery, First Hospital of Hebei Medical University, Donggang Road, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China. zzz-doctor@163.com

Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of expression of microRNA-214 (miR-214) in colorectal cancer (CRC), and to investigate the effect of miR-214 overexpression on SW1116 cell proliferation.

METHODS: Total RNA was extracted from 44 surgical specimens of CRC and matched normal mucosa, as well as from seven colon cancer cell lines. MiR-214 expression was detected by real-time PCR, and its clinical significance was analyzed. MTS assay and colony formation assay

were used to assess the effect of miR-214 overexpression on CRC cell proliferation.

RESULTS: MiR-214 expression was down-regulated in 77.3 % (34/44) of tumor tissue specimens. The relative expression level of miR-214 was significantly lower in tumor tissues than in matched normal mucosal tissues (0.0264 vs 0.0505, $P = 0.0097$). Lower miR-214 level was strongly associated with mucinous cancer ($P = 0.0138$). The expression of miR-214 in colon cancer cell lines was lower than that in controls. Overexpression of miR-214 inhibited the growth and colony formation of tumor cells (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: MiR-214 expression is down-regulated in CRC, particularly in mucinous cancer. MiR-214 might act as a tumor suppressor through inhibiting cell proliferation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; MiRNA-214; Cell proliferation

Zhang LJ, Wu CP, Zhang ZY, Liu B, Fan ZB, Pei YB, Zhao ZR. Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2875-2880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2875.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2875>

摘要

目的: 探讨microRNA-214(miR-214)在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的表达, 分析其与临床病理特征间的关系, 并观察对SW1116细胞增殖的影响。

方法: 通过Real-time PCR技术检测miR-214在结肠癌细胞株及44例结直肠癌组织、相应切缘无瘤黏膜组织中的表达水平, 分析miR-214的表达与结直肠癌患者临床病理特征的关系。采用脂质体介导的转染方法将miR-214模拟物转染SW1116; MTS及克隆形成试验检测对细胞增殖的影响。

■背景资料

miRNAs对细胞的增殖、分化和凋亡有重要的调节作用, 他们在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同。研究发现, miRNA在恶性肿瘤发生发展过程中起了癌基因或抑癌基因的作用。

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

■研究前沿

研究发现miR-214在多种恶性肿瘤中均有异常表达,并且可通过多种机制影响肿瘤的发生发展。目前,miR-214在结直肠癌中的研究鲜有报道。本研究通过检测miR-214在结直肠癌组织和细胞中的表达,分析其在结直肠癌发生发展中的作用,为结直肠癌的发病机制提供新的理论依据。

结果: miR-214在77.3%(34/44)的结直肠癌组织中低表达;miR-214在结直肠癌组织和相应切缘无瘤黏膜中的表达水平分别为0.0264(0.0063, 0.0591)和0.0505(0.0250, 0.1122),结直肠癌组织中表达水平显著低于切缘无瘤黏膜,差异有统计学意义($Z = -2.591$, $P = 0.0097$)。miR-214在黏液癌中的表达水平显著低于非黏液癌($P = 0.0138$)。结肠癌细胞株中miR-214的表达普遍下调。SW1116细胞转染miR-214模拟物后,miR-214表达明显增加;miR-214模拟物转染组和阴性对照组相比,细胞生长减慢,细胞集落减少,细胞增殖活力明显受抑制($P < 0.01$)。

结论: miR-214在结直肠癌中低表达,黏液癌中下调更明显。上调miR-214表达可抑制结肠癌细胞增殖活性。miR-214可能在结直肠癌的发生发展中发挥抑癌作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; miRNA-214; 细胞增殖

核心提示: MiR-214在结直肠癌中低表达,黏液癌中下调更明显。上调miR-214表达可抑制结肠癌细胞增殖活性。miR-214可能在结直肠癌的发生发展中发挥抑癌作用。

张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁. MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2875-2880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2875.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2875>

0 引言

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率均居于恶性肿瘤前列^[1]。microRNA(miRNA)为一种单链非编码RNA,作为调控因子参与了细胞的生长、增殖、分化、凋亡等多种生命过程^[2-4]。miRNA失调与肿瘤发生发展关系密切。研究表明miRNA-214(miR-214)可通过多种机制影响肿瘤的发生发展^[5-11]。目前,miR-214在结直肠癌中的研究鲜有报道。本研究通过检测miR-214在结直肠癌组织和细胞中的表达,分析其在结直肠癌发生发展中的作用,为结直肠癌的发病机制提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-05/2012-05河北医科大学第一医院44例结直肠癌组织标本,每例标本分别

取自结直肠原发肿瘤组织及上(下)切缘正常黏膜且术后病理证实无癌组织侵犯。离体后迅速置于液氮,存于-80℃备用。患者年龄31-83岁,平均64.52岁±13.97岁;男性25例,女性19例;结肠21例,直肠23例;未侵及浆膜9例,侵及浆(外)膜及以外35例;高分化2例,中分化35例,低分化7例;非黏液癌34例,黏液癌9例,资料缺失1例;无淋巴结转移28例,有淋巴结转移16例;Dukes分期A期5例,B期22例,C期13例,D期4例。所有患者术前未接受任何放化疗,术后经病理证实符合WHO结直肠癌诊断标准。实验所选用7种结肠癌细胞株(Caco-2、DLD1、HT29、LOVO、SW620、SW480、SW1116)由香港中文大学于君教授转赠。TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司;Real-time PCR试剂盒All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit、U6、miR-214引物,均购自美国复能基因有限公司;McCoy's 5A培养液、DMEM培养液、Leibovitz's L-15培养液、胎牛血清、青链霉素,均购自美国Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HT-29细胞选用McCoy's 5A培养液,SW480、SW620、SW1116细胞选用Leibovitz's L-15培养液,DLD1、LOVO、Caco-2选用DMEM培养液,培养液均加入10%FBS和1%PEST。培养条件为37℃、5%CO₂,根据生长情况每2-3 d换液1次,当细胞数达长满培养瓶底部时,收集细胞。

1.2.2 总RNA的提取: 将约100 mg组织放入研钵研磨,放入加有1 mL TRIzol的EP管(如在细胞中提取,将细胞培养瓶中培养液吸净,加入1 mL TRIzol,反复吹打然后移入EP管中),静置5 min,加氯仿0.2 mL,混匀静置5 min,12000 g离心15 min,吸取上层无色液相,加入0.5 mL异丙醇,静置15 min,12000 g离心15 min,可见RNA沉淀,弃上清,加750 mL/L乙醇1 mL混匀,7500 g离心5 min,弃上清,DEPC水溶解。琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性、分光光度计检测RNA浓度及纯度。

1.2.3 Real-time PCR检测miR-214的表达: 取总RNA 2 μg进行逆转录反应,反应条件:37℃、60 min,85℃、5 min。取逆转录产物cDNA 2 μL进行实时定量PCR反应,反应条件:95℃预变性10 min,然后按95℃、10 s,60℃、30 s,72℃、10 s,进行40个循环。以上各步骤中,反应体系以及试剂用量均严格按照说明书进行。反应结束,检测各模板的Ct值。通过Ct值进行相对定量。miR-214的相对表达量用2^{-ΔΔCt}法计算,其中ΔCt =

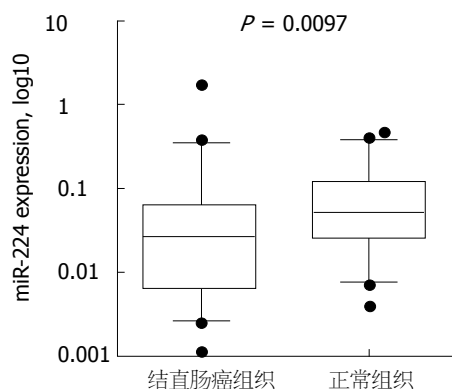


图1 结直肠癌组织及正常黏膜中miR-214的表达.

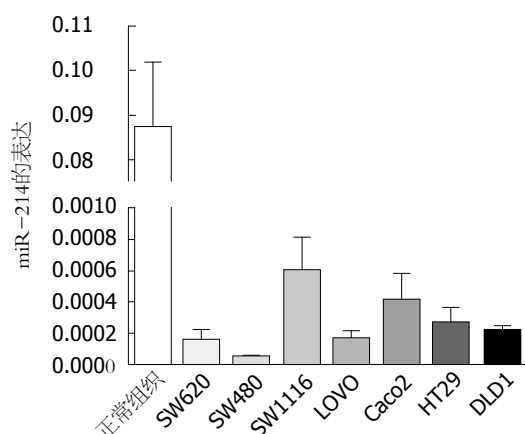


图2 结肠癌细胞株中miR-214的表达.

CT(miR-214)-CT(U6), 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因初始cDNA相对表达量.

1.2.4 miR-214模拟物的转染: 将结肠癌细胞 SW1116细胞接种后24 h, 待贴壁细胞达到40%-50%时进行转染, 参照脂质体转染试剂说明书分别转染miR-214模拟物和阴性对照(NC).

1.2.5 细胞增殖活性的检测: (1)MTS比色法来测定细胞活力: 转染miR-214模拟物组和NC组结肠癌SW1116细胞株, 于转染后24 h, 消化细胞, 按照1000个/孔接种于96孔细胞培养板中, 每孔100 μ L培养液, 分别于培养12、24、36、48、60 h按20 μ L/孔加入MTS检测试剂, 在培养箱中继续孵育2 h, 490 nm测定吸光度(A)值, 绘制增殖曲线; (2)克隆形成实验: 将各转染组细胞以 1×10^3 /mL的浓度接种于6孔板中, 设立3个复孔. 每孔加入2 mL培养液常规培养, 每3 d换液1次. 镜下见细胞克隆中细胞数>50个细胞时, 终止培养. 去除培养液后, PBS清洗1遍, 用结晶紫固定染色1-2 h, 去除结晶紫染料, 用清水洗去多余的染料, 晾干后肉眼进行计数.

统计学处理 应用SPSS13.0软件对数据进行

表1 结直肠癌组织中miR-214的表达与临床病理特征间的关系

临床病理特征	n	miR-214	P值
性别			0.722
男	25	0.413(0.144, 1.463)	
女	19	0.296(0.157, 0.614)	
年龄(岁)			0.371
≤60	14	0.418(0.254, 1.016)	
>60	30	0.249(0.137, 1.373)	
肿瘤位置			0.121
结肠	21	0.443(0.177, 2.612)	
直肠	23	0.226(0.138, 0.992)	
浸润深度			0.332
肌层	9	0.216(0.128, 0.748)	
浆膜层	35	0.350(0.170, 1.176)	
分化程度			0.893
中、高分化	37	0.296(0.174, 1.155)	
低分化	7	0.443(0.063, 6.168)	
组织学类型			0.0138
非黏液癌	34	0.418(0.204, 1.373)	
黏液腺癌	9	0.134(0.047, 0.409)	
淋巴结转移			0.502
有	28	0.571(0.223, 1.119)	
无	16	0.524(0.193, 1.092)	

统计分析, 非正态数据以中位数(四分位数间距), 两组间配对样本采用Wilcoxon检验, 独立样本采用Mann-Whitney检验, 正态数据以mean±SD表示, 采用配对t检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌组织中miR-214的表达 我们采用Real-time PCR技术检测miR-214的表达, 以U6为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析结直肠癌组织相对无瘤正常黏膜组织的相对表达量. miR-214在77.3%(34/44)的结直肠癌组织中低表达; miR-214在结直肠癌组织和相应切缘无瘤黏膜中的表达水平分别为0.0264(0.0063, 0.0591)和0.0505(0.0250, 0.1122), 结直肠癌组织中表达水平显著低于切缘无瘤黏膜, 差异有统计学意义($Z = -2.591$, $P = 0.0097$)(图1).

2.2 miR-214的表达与临床病理特征间的关系 miR-214的表达水平与结直肠癌患者的组织学分型密切相关, 即非黏液癌中的表达水平显著高于黏液癌($U = 70$, $P = 0.0138$), 而与性别、年龄、部位、浸润深度、分化程度、淋巴结转移和临床分期无关(均 $P>0.05$)(表1).

■ 相关报道

Huang研究认为miR-214表达上调可以显著抑制食管鳞状细胞癌细胞的转移和侵袭能力. 同时有学者研究发现miR-214可以抑制宫颈癌及乳腺癌细胞的侵袭.

■ 创新盘点

本研究分析了miR-214在结直肠癌及切缘无瘤黏膜组织中的表达,并分析和临床病理特征间的关系。同时通过上调结肠癌细胞中miR-214的表达,探讨其对肿瘤细胞增殖的影响。

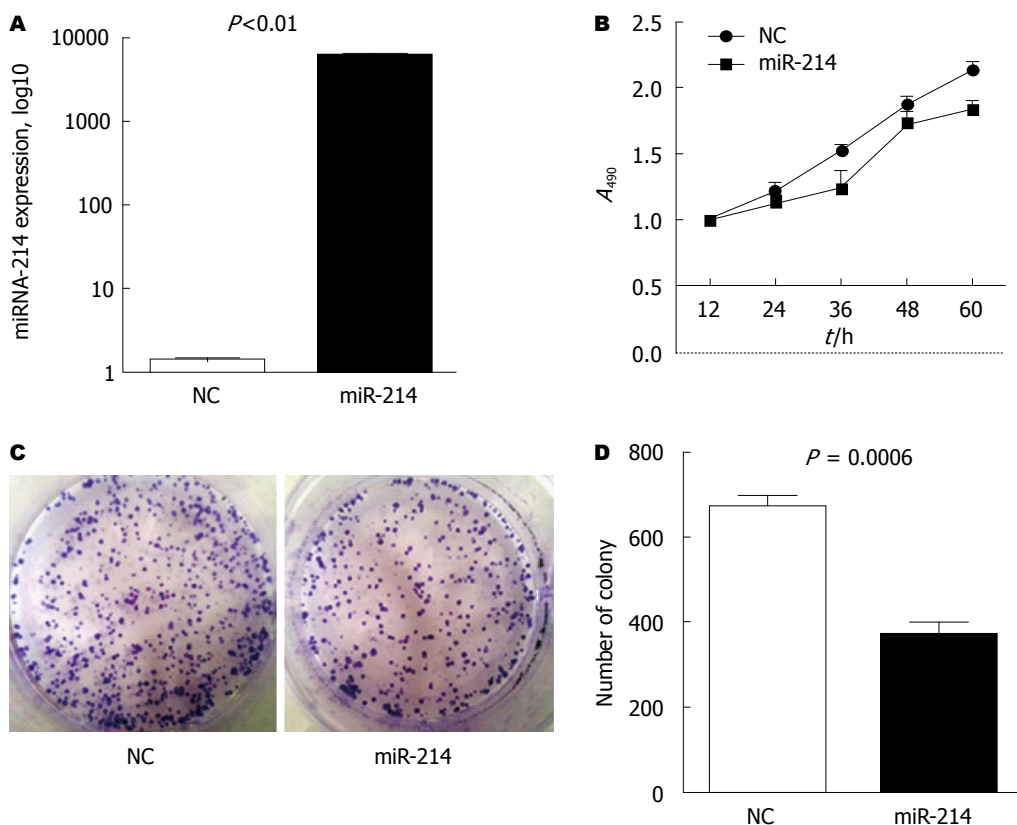


图3 miR-214上调对细胞增殖的影响。A: 转染miR-214模拟物后, miR-214表达明显增加; B: MTS试验, 转染miR-214模拟物组细胞生长较NC组缓慢; C: 平板克隆试验; D: 转染miR-214模拟物组, 细胞集落数明显减少。

2.3 miR-214在结肠癌细胞株中的表达 miR-214在结肠癌细胞Caco-2、DLD1、HT29、LOVO、SW620、SW480和SW1116中的表达均明显低于结直肠切缘无瘤黏膜组织($P < 0.01$)(图2)。

2.4 miR-214对结肠癌SW1116细胞增殖的影响 我们选取生长状态及细胞形态较好的SW1116细胞作为研究对象, 将SW1116细胞分别转染miR-214模拟物和阴性对照, 检测miR-214的表达, 结果证实, 转染miR-214模拟物组miR-214的表达水平约是NC对照组的5000倍(图3A)。随后MTS检测结果显示, 转染miR-214模拟物后细胞生长速度较NC对照组明显减慢, 差异有统计学意义($P < 0.01$)(图3B)。细胞克隆形成实验检测结果发现, 与阴性对照组比较, 经miR-214模拟物处理后SW1116细胞形成的集落数明显减少(图3C, D)。

3 讨论

microRNA是一种高度保守的单链非编码RNA, 主要在转录后水平调控基因的表达。miRNA几乎在所有细胞的生物学进程中发挥重要的调控作

用, 如细胞增殖、分化、代谢、凋亡和应激等。人类蛋白质编码基因约1/3受miRNA的调控^[12]。

最近发现miR-214在肿瘤中作用尤为活跃, 在多种恶性肿瘤中均有异常表达, 但在不同肿瘤中miR-214的表达情况却不尽相同, 具有一定的肿瘤特异性。Huang等^[5]研究表明miR-214在食管鳞癌中低表达并与食管鳞癌的病理分级、临床分期和淋巴结转移相关。Shih等^[6]发现在肝细胞肝癌中miR-214表达下调与患者的复发和预后差密切相关。另有学者认为在乳腺癌患者血清中miR-214也存在低表达, 并且与淋巴结转移情况相关^[7]。Yang等^[8]研究发现miR-214在宫颈癌组织中表达水平明显低于正常组织。另外一些研究发现, miR-214在某些肿瘤中呈现高表达, 通过促进癌细胞的增殖、增强化疗耐药性发挥癌作用。Zhang等^[9]认为miR-214在胰腺癌中高表达, 能促进胰腺癌细胞的生存并降低癌细胞对GEM的敏感性。Yang等^[10]发现miR-214可以促进卵巢癌细胞的存活, 并降低化疗药物顺铂敏感性。此外, miR-214可以对黑色素瘤细胞的转移和侵袭也具有促进作用^[11]。在本研究中, 我们发现, miR-214在多种结肠癌细胞以及

肿瘤组织中的表达水平均显著低于结直肠切缘无瘤黏膜, 随后分析其与临床病理特征的关系发现, 黏液腺癌中miR-214的表达明显降低. 结直肠黏液癌的发生机制、形态学表现及预后等均与非黏液癌显著不同. Song等^[13]收集2079例结直肠癌的临床病理及预后进行了回顾性研究, 结果显示同非黏液癌相比, 黏液癌分期更晚, 易发生转移, 预后往往较差. 提示结直肠黏液癌与非黏液癌不仅组织形态不同, 其生物学行为也不同, 二者可能具有不同的肿瘤发生机制. King-Yin Lam等^[14]对36例结直肠黏液癌和228例非黏液癌的研究结果相同. 在本研究中, 结直肠黏液癌中miR-214表达水平明显低于非黏液癌, 提示miR-214下调可能与黏液癌的发生密切相关.

miR-214在结直肠癌中表达下调, 可能参与了结直肠癌的发展过程, 然而其调控机制尚不明确. 为了深入了解miR-214在结肠癌发病过程中的具体作用及其对结肠癌细胞生物学行为的影响, 本研究使用化学合成的miR-214模拟物转染结肠癌SW1116细胞, 上调结肠癌细胞中miR-214的表达, 采用平板克隆形成试验, 观察细胞生长情况, 发现miR-214高表达可以减少细胞集落形成, 抑制细胞增殖. 目前, 有多项研究表明miR-214影响了肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、转移等生物过程. Huang等^[5]研究认为miR-214表达上调可以显著抑制食管鳞状细胞癌细胞Eca109的转移和侵袭能力. 同时有学者研究发现miR-214可以抑制宫颈癌^[5]及乳腺癌细胞的侵袭^[7].

细胞增殖过程有诸多蛋白参与, 推测miR-214可能直接或间接锚定其中某些蛋白mRNA 3'UTR区, 使蛋白合成抑制或减少, 使细胞周期与细胞增殖活性失调而发生恶性转化. 有研究发现, miR-214可以通过调节P53, 抑制DNA复制而发挥抑制骨髓瘤细胞生长的作用^[15]. 肝细胞癌的研究发现, miR-214通过抑制 β -catenin途径而发挥抑制细胞生长、侵袭的作用^[16,17]. 关于miR-214在结直肠癌中的具体作用机制, 调控的靶基因及参与调节的信号通路仍待进一步研究.

总之, miR-214在结直肠癌中表达下调, miR-214可能通过抑制细胞增殖发挥抑癌作用, 但具体信号通路有待进一步研究.

4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华. miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1685-1692
- 3 马群英, 王新颖, 李钊, 姜泊, 许岸高. miR-106a在大肠癌中的表达及其与肠癌细胞侵袭的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3370-3374
- 4 冷弘, 臧文巧, 王涛, 王媛媛, 马晶, 赵国强. miR-451对食管癌EC9706细胞增殖、凋亡及侵袭能力的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1323-1327
- 5 Huang SD, Yuan Y, Zhuang CW, Li BL, Gong DJ, Wang SG, Zeng ZY, Cheng HZ. MicroRNA-98 and microRNA-214 post-transcriptionally regulate enhancer of zeste homolog 2 and inhibit migration and invasion in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cancer* 2012; 11: 51 [PMID: 22867052 DOI: 10.1186/1476-4598-11-51]
- 6 Shih TC, Tien YJ, Wen CJ, Yeh TS, Yu MC, Huang CH, Lee YS, Yen TC, Hsieh SY. MicroRNA-214 downregulation contributes to tumor angiogenesis by inducing secretion of the hepatoma-derived growth factor in human hepatoma. *J Hepatol* 2012; 57: 584-591 [PMID: 22613005 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.031]
- 7 Schwarzenbach H, Milde-Langosch K, Steinbach B, Müller V, Pantel K. Diagnostic potential of PTEN-targeting miR-214 in the blood of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134: 933-941 [PMID: 22350790 DOI: 10.1007/s10549-012-1988-6]
- 8 Yang Z, Chen S, Luan X, Li Y, Liu M, Li X, Liu T, Tang H. MicroRNA-214 is aberrantly expressed in cervical cancers and inhibits the growth of HeLa cells. *IUBMB Life* 2009; 61: 1075-1082 [PMID: 19859982 DOI: 10.1002/iub.252]
- 9 Zhang XJ, Ye H, Zeng CW, He B, Zhang H, Chen YQ. Dysregulation of miR-15a and miR-214 in human pancreatic cancer. *J Hematol Oncol* 2010; 3: 46 [PMID: 21106054 DOI: 10.1186/1756-8722-3-46]
- 10 Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, Wenham RM, Coppola D, Kruk PA, Nicosia SV, Cheng JQ. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res* 2008; 68: 425-433 [PMID: 18199536 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 11 Penna E, Orso F, Cimino D, Tenaglia E, Lembo A, Quagliano E, Polisenio L, Haimovic A, Osella-Abate S, De Pittà C, Pinatel E, Stadler MB, Provero P, Bernengo MG, Osman I, Taverna D. microRNA-214 contributes to melanoma tumour progression through suppression of TFAP2C. *EMBO J* 2011; 30: 1990-2007 [PMID: 21468029 DOI: 10.1038/emboj.2011.102]
- 12 Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005; 433: 769-773 [PMID: 15685193]
- 13 Song W, Wu SJ, He YL, Cai SR, Zhang CH, Zhang XH, Zhan WH. Clinicopathologic features and survival of patients with colorectal mucinous, signet-ring cell or non-mucinous adenocarcinoma: experience at an institution in southern China. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 1486-1491 [PMID: 19719934]
- 14 King-Yin Lam A, Ong K, Ho YH. Colorectal mucinous adenocarcinoma: the clinicopathologic features and significance of p16 and p53 expression. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1275-1283 [PMID: 16912910]

■应用要点

MiR-214在结直肠癌发生发展过程中的作用研究尚处于初级阶段, 对其深入研究有助于了解并探索结直肠癌发生发展机制, 本实验为miR-214用于结直肠癌的靶向治疗提供了初步的理论依据.

■同行评价

本文分析结直肠癌组织中miR-214的表达,并探讨其与临床病理特征间的关系,具有一定的临床意义。

- 15 Misiewicz-Krzeminska I, Sarasquete ME, Quwaider D, Krzeminski P, Ticona FV, Paíno T, Delgado M, Aires A, Ocio EM, García-Sanz R, San Miguel JF, Gutiérrez NC. Restoration of microRNA-214 expression reduces growth of myeloma cells through positive regulation of P53 and inhibition of DNA replication. *Haematologica* 2013; 98: 640-648 [PMID: 23100276 DOI: 10.3324/haematol.2012.070011]
- 16 Wang X, Chen J, Li F, Lin Y, Zhang X, Lv Z, Jiang J. MiR-214 inhibits cell growth in hepatocellular carcinoma through suppression of β -catenin. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 428: 525-531 [PMID: 23068095 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.10.039]
- 17 Xia H, Ooi LL, Hui KM. MiR-214 targets β -catenin pathway to suppress invasion, stem-like traits and recurrence of human hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e44206 [PMID: 22962603 DOI: 10.1371/journal.pone.0044206]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华, 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科三区 北京市 100038

张展志, 主治医师, 主要从事结肠直肠癌及腹膜后肿瘤的外科治疗。

作者贡献分布: 本课题设计由罗成华与张展志完成; 于军辉与刘刚负责资料的收集整理; 廖代祥参与写作指导; 本文的数据分析和写作由张展志完成。

通讯作者: 罗成华, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科三区。

zzzbmu@sina.com

收稿日期: 2013-07-31 修回日期: 2013-08-11

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-28

Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases

Zhan-Zhi Zhang, Jun-Hui Yu, Gang Liu, Dai-Xiang Liao, Cheng-Hua Luo

Zhan-Zhi Zhang, Jun-Hui Yu, Gang Liu, Dai-Xiang Liao, Cheng-Hua Luo, Department of General Surgery (Division III), Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Correspondence to: Cheng-Hua Luo, Department of General Surgery (Division III), Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China. zzzbmu@sina.com

Received: 2013-07-31 Revised: 2013-08-11

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To analyze the risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation in patients with rectal cancer.

METHODS: Clinical data for 289 patients who underwent Dixon operation for rectal cancer from April 2009 to April 2013 at our hospital were retrospectively analyzed. Factors including gender, age, diabetes, TNM stage, nutritional indices and the distance between the anastomosis site and anal edge were analyzed statistically.

RESULTS: Among the factors possibly affecting the development of anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer, the relative risk of TNM stage was biggest (OR = 2.165), and that of the distance between the anastomosis site and anal edge was smallest (OR = 0.194).

CONCLUSION: Among the factors possibly affecting the development of anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer, TNM stage is the biggest risk factor, and the distance between the anastomosis site and anal edge is the biggest protective factor.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Dixon operation; Anastomotic fistula; Logistic analysis

Zhang ZZ, Yu JH, Liu G, Liao DX, Luo CH. Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2881-2885 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2881>

摘要

目的: 研究直肠癌患者行Dixon手术后发生吻合口瘘的相关因素。

方法: 回顾性分析2009-04/2013-04我院收治的289例行Dixon手术直肠癌患者的性别、年龄、伴有糖尿病、TNM分期、营养指标和吻合口距肛缘距离的情况, 统计吻合口瘘的发生情况, 并进行Logistic回归分析。

结果: 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中, 相对危险度最大的是TNM分期(OR = 2.165), 相对危险度最小的是吻合口距肛缘距离(OR = 0.194)。

结论: 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素, 吻合口距肛缘距离是最大的保护因素。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 直肠癌; Dixon手术; 吻合口瘘; Logistic分析

核心提示: 围手术期, 通过营养支持和控制血糖, 针对可变因素采取积极措施, 可以降低直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的发生几率。直肠癌Dixon

■背景资料

我国直肠癌的发病率逐年增高, 且患者中低位直肠癌所占比例可达70%, 行Dixon手术可免除肠造口带来的生活上的不便及心理上的困扰, 但术后的吻合口瘘是较为严重的并发症, 严重影响患者术后的康复过程, 甚至可导致死亡。研究吻合口瘘发生的相关因素, 围手术期针对可变因素采取积极措施, 可以降低其发生几率。对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕, 早发现, 早采取可靠措施, 也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用。

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■ 研发前沿

经过相关因素的分析,可筛选出术后吻合口瘘的高危患者。在进行Dixon手术的同时可进行预防性的回肠造口,术后3-6 mo,视患者的恢复情况,再行造口还纳,这样可以有效降低吻合口瘘的发生率,提高直肠癌保肛手术的安全性。

术后吻合口瘘的最大危险因素是TNM分期,最大保护因素是吻合口距离肛门距离,对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕,早发现,早采取可靠措施,也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用,对高危患者同时进行预防性的回肠造口,术后3-6 mo,视患者的恢复情况,再行造口还纳,这样可以进一步降低吻合口瘘的发生率,进一步提高直肠癌保肛手术的安全性。

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华. 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2881-2885 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2881>

0 引言

直肠恶性肿瘤患者,男女比例为2:1,多数为高龄患者,低位直肠癌占70%,确诊时往往超过30%伴有营养不良。吻合口瘘是较严重的并发症,尤其是继发严重感染时,可危及生命。分析吻合口瘘的危险因素,对直肠癌手术的安全性具有重要意义^[1]。多数吻合口瘘可经双套管冲洗等保守治疗治愈,少数经久不愈的还需要手术治疗。理解吻合口瘘发生的危险因素,围手术期针对可变因素采取积极措施,可以降低其发生率。对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕,早发现,早采取可靠措施,也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用。故此进行了本研究分析,观察分析结果如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-04/2013-04于我科行Dixon手术的289例直肠癌患者均具有完整临床病理资料,其男179例、女110例,年龄32-82岁,平均57.5岁。伴有糖尿病患者79例。住院期间平均血红蛋白水平为95 g/L,平均白蛋白水平为33 g/L,平均吻合口距离肛缘为5.3 cm,手术后TNM分期为I期55例、II期95例、III期98例、IV期41例,术后吻合口瘘33例(表1,表2)。

1.2 方法 统计此289例患者年龄、性别、合并糖尿病及TNM分期情况,住院期间血红蛋白、白蛋白水平,手术中吻合口距离肛缘的距离,统计其行Dixon术后的吻合口瘘的发生率。并将上述各项数据进行Logistic回归分析。

统计学处理 全部数据均用SPSS13.0软件包处理行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

Logistic回归分析显示,此组直肠癌患者,Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素,吻合口距肛缘距离是最大的保护因素(表3,表4)。

3 讨论

在西方国家,直肠癌的发病率和死亡率居高不下,在东亚如中国、日本、韩国和新加坡的发病率经历了2-4倍的增长^[2]。在我国已经发现的直肠癌患者中,低位直肠癌占很高的比例。保留肛门可明显提高患者的生活质量,配合放疗可以提高手术的切除率,临床的需求很大。低位保肛的手术方式包括低位前切除术(Dixon)、经括约肌间切除术(ISR)、经会阴切除术(Apear)。手工吻合后吻合口瘘的发生率是吻合器吻合的2倍^[3],所以临床上目前常规使用吻合器吻合。其中目前仍旧以Dixon作为主流手术方式,距离肿瘤远侧2 cm处切段直肠,双吻合器切除肿瘤并行吻合,可以使绝大部分低位直肠癌得到根治,但仍旧有一定的吻合口瘘的发生率。随着全直肠系膜切除术的推广及保肛手术的增加,直肠癌前切除术后吻合口瘘的发生率也在升高^[4]。目前有关的资料表明,双吻合器法Dixon手术后的吻合口瘘发生率在10%左右^[5]。多个因素参与吻合口瘘的发生。

首先,男性患者多发直肠癌,而在行Dixon手术的患者中男性发生吻合口瘘的几率更大。这可能与男性的骨盆相对女性狭窄有关。女性盆腔宽大,子宫在盆腔中占有一定的空间,术野暴露清楚,吻合口周围空隙较大,利于手术操作且吻合口的张力容易控制,吻合更加准确且不良损伤少^[6]。而在进行肿瘤切除和进行肠管吻合的时候,男性的骨盆狭窄,使得操作困难性加大,从而影响了吻合器吻合的质量,并影响了吻合口肠管浆膜层的减张加固缝合,甚至在某些极端困难的情况下,无法行减张缝合。从而相对于女性有可能增加吻合口瘘的发生率^[7]。

其次,目前直肠癌的患者日趋年轻化,但仍旧以中老年患者居多。老年患者合并多种内科疾病且多伴有营养不良,尤其是老年患者的代谢率低,组织愈合能力差,从而相对于较年轻的患者有可能增加吻合口瘘的发生率。

糖尿病患者普遍抗感染能力差,此观点已经被普遍接受。由于组织内和血液内的高血糖,影

表 1 289例直肠癌患者的临床资料 (n)

性别(n)		糖尿病(n)		年龄(岁)				TNM分期			
男	女	有	无	<45	45-54	55-65	>65	I期	II期	III期	IV期
179	110	79	210	8	99	90	92	55	95	98	41

表 2 289例直肠癌患者的临床资料 (n)

血红蛋白水平(g/L)				白蛋白水平(g/L)				吻合口距肛缘距离(cm)				吻合口瘘(n)	
<60	60-89	90-120	>120	<25	25-29	30-35	>35	<3	3-6	7-10	>10	有	无
92	49	50	98	55	95	90	49	45	84	95	65	33	256

表 3 吻合口瘘7个可能的危险因素的赋值

因素	自变量名	赋值说明
性别	VAR00001	男 = 0 女 = 1
糖尿病	VAR00002	无 = 0 有 = 1
年龄(岁)	VAR00003	<45 = 1 45-54 = 2 55-65 = 3 >65 = 4
TNM分期	VAR00004	I期 = 1 II期 = 2 III期 = 3 IV期 = 4
血红蛋白(g/L)	VAR00005	<60 = 1 60-89 = 2 90-120 = 3 >120 = 4
白蛋白(g/L)	VAR00006	<25 = 1 25-29 = 2 30-35 = 3 >35 = 4
吻合口距肛缘距离(cm)	VAR00007	<3 = 1 3-6 = 2 7-10 = 3 >10 = 4
吻合口瘘	Constant	无 = 0 有 = 1

响了巨噬细胞的趋化能力,使其从血管内皮间隙进入感染组织的效率下降.吻合口是易于形成脓肿的位置,如果患者的抗感染能力差,就容易形成吻合口脓肿,进一步形成吻合口瘘.因此围手术期糖尿病的内科治疗,将血糖控制在安全范围,是减少吻合口瘘的有效方法之一.赵航等^[8]报道,糖尿病患者术后吻合口瘘的发生率高于无糖尿病患者.

蛋白质是反映机体营养状态的重要指标.大量的研究证明蛋白质能量营养不良对免疫系统的各个环节均有显著的影响.肿瘤患者多伴有营养不良及免疫抑制,随着病情的发展而加重.术后患者的营养及免疫机制较术前差,这可能与手术的创伤和术后没能及时应用早期营养有关.营养和免疫功能低下,造成组织尤其是吻合口的生长和修复能力下降,从而引起吻合口瘘的几率增加.大多学者认为营养及免疫功能的低下与术后的吻合口瘘呈正相关,增强直肠癌患者的术前术后的营养支持,可降低吻合口瘘的发生率.Luna-Pérez等^[9]认为,血浆清蛋白水平低于30 g/L是吻合口瘘的独立危险因素,术前纠正患者的贫血和低蛋白血症有助于减少术后吻

合口瘘的发生.因此测定直肠癌患者手术前后的营养及免疫功能,并对结直肠癌患者进行营养支持是十分必要的.

行Dixon手术时,切除的肿瘤位置越低,吻合和行减张缝合时的困难性就越大,因此会影响到吻合的质量,增加瘘形成的几率.低位直肠癌切除后,两侧的肠管直径相差较大,肠蠕动恢复后会影响到内容物的通过顺畅程度,也可增加瘘的发生率.直肠解剖特点是腹膜反折以下10 cm的直肠段缺乏浆膜层,耐受张力能力差^[10].因此吻合口距离肛缘的位置越低其发生吻合口瘘的几率越大是有一定道理的.此外吻合口有张力是吻合口瘘发生的另一个原因,没有充分的游离左半结肠或左结肠动脉弓较短是吻合口张力大的主要原因.术后及时的扩张肛门,或有效的放置肛门排气管,都是预防吻合口瘘的有效措施.

当然,手术操作也是直肠癌术后吻合口瘘的重要因素.吻合口针距过密或过稀、线结结扎过紧或过松,均不利于组织靠拢修复及止血,易增加感染机会,且吻合口张力过大、吻合口血运不良等均能增加吻合口瘘的发生.然而,随着直肠癌外科治疗方法的不断改进及吻合器的应

■**相关报道**
国内的周灿等以19篇关于直肠癌术后吻合口瘘的文献为基础,进行Meta分析,系统阐述了多个危险因素与吻合口瘘发生的相关性,并纳入了放疗及急诊手术等因素,为我们提供了较为全面详实参考资料.

■创新盘点

此篇文章提出了最大危险因素是TNM分期,最大保护因素是吻合口距离肛门距离的观点,提炼出了多因素中的主要因素。

表 4 Logistic回归分析结果

		回归系数	标准误	Wald	Df	P值	Exp(B) OR值	95%CI for EXP(B)	
								下限	上限
第1步	VAR00001	-0.145	0.511	0.081	1	0.776	0.865	0.317	2.356
	VAR00002	0.536	0.562	0.912	1	0.340	1.710	0.568	5.144
	VAR00003	-0.219	0.267	0.673	1	0.412	0.803	0.476	1.356
	VAR00004	0.786	0.271	8.423	1	0.004	2.195	1.291	3.733
	VAR00005	-0.266	0.192	1.910	1	0.167	0.767	0.526	1.118
	VAR00006	-0.481	0.223	4.665	1	0.031	0.618	0.399	0.956
	VAR00007	-1.558	0.379	16.897	1	0.000	0.211	0.100	0.443
	Constant	1.202	1.699	0.500	1	0.479	3.327		
第2步	VAR00002	0.496	0.540	0.842	1	0.359	1.642	0.569	4.734
	VAR00003	-0.226	0.266	0.719	1	0.396	0.798	0.474	1.344
	VAR00004	0.779	0.268	8.423	1	0.004	2.179	1.288	3.687
	VAR00005	-0.260	0.192	1.848	1	0.174	0.771	0.530	1.122
	VAR00006	-0.496	0.216	5.254	1	0.022	0.609	0.398	0.931
	VAR00007	-1.569	0.377	17.315	1	0.000	0.208	0.099	0.436
	Constant	1.209	1.689	0.513	1	0.474	3.351		
第3步	VAR00002	0.551	0.534	1.065	1	0.302	1.736	0.609	4.946
	VAR00004	0.775	0.268	8.340	1	0.004	2.171	1.283	3.673
	VAR00005	-0.276	0.191	2.084	1	0.149	0.759	0.522	1.104
	VAR00006	-0.457	0.211	4.706	1	0.030	0.633	0.419	0.957
	VAR00007	-1.551	0.376	16.982	1	0.000	0.212	0.101	0.443
	Constant	0.469	1.450	0.105	1	0.746	1.599		
第4步	VAR00004	0.703	0.253	7.721	1	0.005	2.021	1.230	3.319
	VAR00005	-0.276	0.190	2.103	1	0.147	0.759	0.522	1.102
	VAR00006	-0.477	0.212	5.067	1	0.024	0.621	0.410	0.940
	VAR00007	-1.709	0.339	25.387	1	0.000	0.181	0.093	0.352
	Constant	1.288	1.197	1.158	1	0.282	3.624		
第5步	VAR00004	0.773	0.253	9.287	1	0.002	2.165	1.317	3.559
	VAR00006	-0.511	0.208	6.049	1	0.014	0.600	0.400	0.902
	VAR00007	-1.641	0.323	25.881	1	0.000	0.194	0.103	0.365
	Constant	0.372	1.032	0.130	1	0.718	1.451		

用,缩短了吻合时间,吻合切口缘组织整齐,组织反应轻,提高了吻合质量,减少了瘘的发生率。因此,吻合器吻合的安全性优于或等于手法吻合^[11]。本组患者全部采用双吻合器法进行手术,消除了手术方式带来的影响。

分期越晚、手术范围越大、肿瘤位置越低者,手术难度越大,且相对增加了吻合口的张力,影响局部愈合及抗感染能力,并加大细菌污染的机会^[12];并且TNM分期越晚的患者,肿瘤体积越大,病变范围越广,在手术时切除范围较广泛,手术操作难度更大,甚至远断端有癌细胞残留,增加术后吻合口瘘的发生率。

对于术前辅助放疗或新辅助放化疗是否影响吻合口瘘的发生几率,有着不同的观点。Martel等^[13]在其研究中证实术前新辅助放化疗并没

有影响吻合口瘘的发生率,Alves等^[14]及杨建光等均认为放射治疗将增大术后发生吻合口瘘的风险。随着术前辅助放疗和新辅助放化疗病例数的增加,我们将在以后的研究中进一步探讨其对吻合口瘘的影响。

直肠癌术后发生吻合口瘘后,主要采取3种处理方式:保守治疗、积极手术治疗、先保守治疗,病情无明显缓解后采取手术治疗^[15]。关于吻合口瘘发生后的治疗方式选择,有人推荐首选保守治疗^[16]。大部分的瘘是可以经保守治疗治愈的,其中最主要的措施是充分的骶前冲洗引流,并加强抗炎和营养治疗。营养治疗可使用肠外营养,如需肠内营养,可口服要素饮食,不产生粪便,为瘘口生长创造良好的环境。如长期不愈合,可行横结肠造口,粪便转流,待瘘口痊愈

后, 再还纳造口. 本组33例吻合口瘘患者, 经保守治疗痊愈30例, 发现瘘开始治疗到痊愈时间为5-40 d. 3例长时间不愈合, 经造口转流后愈合, 二期还纳造口, 效果良好.

直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素, 吻合口距肛缘距离是最大的保护因素. 同时, 加强围手术期血糖的控制, 加强围手术期的营养支持, 手术中充分游离, 尽可能降低吻合口的张力, 术后放置肛门排气管或手法扩肛都是降低吻合口发生率的有效措施. 双套管冲洗和结肠造口为有效治疗手段. 由于样本量较小, 不能将更多的相关因素进行Logistic回归分析. 待扩大样本量后我们将纳入术前辅助放疗和新辅助放化疗, 肿瘤分化级别等更多因素进行分析, 并横向比较不同低位保留肛门的手术方式的效果, 以期得到更全面客观的结论.

4 参考文献

- 周灿, 陈武科, 何建军, 任予, 王珂, 牛利刚, 周瑜辉. 国内直肠癌术后吻合口瘘危险因素的Meta分析. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 115-121
- 邢晓宏, 程英升. 直肠癌MRI功能和分子成像的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1726-1732
- 董新舒, 徐海涛, 王平, 林罗强. 915例直肠癌前切除术并发症临床分析. 中国实用外科杂志 2008; 28: 136-138
- 周海涛, 周志祥, 张海增, 毕建军, 赵平. 直肠癌前切除术后吻合口瘘的危险因素及治疗方法分析. 肿瘤学杂志 2009; 15: 28-31
- Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, Klein Kranenbarg E, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, van de Velde CJ. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 211-216 [PMID: 15584062 DOI: 10.1002/bjs.4806]
- 张洪伟, 王京华, 王为忠, 李孟彬, 康振华, 季刚, 刘晓南, 李纪鹏, 郑建勇. 低位直肠癌保肛术后吻合口漏9例的原因及治疗. 第四军医大学学报 2007; 28: 1139-1141
- 陈辉. 直肠癌全直肠系膜切除术后吻合口瘘的原因与处理. 中国现代医生 2010; 48: 16-18
- 赵航, 宋燕, 姜洋, 谢忠士, 柳福海. 老年直肠癌Dixon术后吻合口漏159例临床分析. 中国老年学杂志 2009; 29: 854-855
- Luna-Pérez P, Rodríguez-Ramírez SE, Gutiérrez de la Barrera M, Labastida S. [Multivariate analysis of risk factors associated with dehiscence of colorectal anastomosis after anterior or lower anterior resection for sigmoid or rectal cancer]. *Rev Invest Clin* 2002; 54: 501-508 [PMID: 12685217]
- Doeksen A, Tanis PJ, Vrouenraets BC, Lanschot van JJ, Tets van WF. Factors determining delay in re-laparotomy for anastomotic leakage after colorectal resection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3721-3725 [PMID: 17659732]
- 陈光, 王磊, 王广义, 所剑, 李有柱, 王有德, 谭毓铨. 应用双吻合器技术保留肛门功能治疗低位直肠癌. 吉林大学学报(医学版) 2003; 29: 194-195
- Penna Ch. [Management of anastomotic fistula following excision of rectal cancer]. *J Chir (Paris)* 2003; 140: 149-155 [PMID: 12910212]
- Martel G, Al-Suhaibani Y, Moloo H, Hagggar F, Friedlich M, Mamazza J, Poulin EC, Stern H, Boushey RP. Neoadjuvant therapy and anastomotic leak after tumor-specific mesorectal excision for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1195-1201 [PMID: 18523823 DOI: 10.1007/s10350-008-9368-3]
- Alves A, Panis Y, Trancart D, Regimbeau JM, Pocard M, Valleur P. Factors associated with clinically significant anastomotic leakage after large bowel resection: multivariate analysis of 707 patients. *World J Surg* 2002; 26: 499-502 [PMID: 11910487 DOI: 10.1007/s00268-001-0256-4]
- 秦光远, 唐卫, 姚敦武, 陈光谱, 左朝晖. 直肠癌术后吻合口漏危险因素分析及防治策略. 中国现代手术学杂志 2011; 15: 198-200
- 蔺海福, 宋志军, 李保义, 范永红, 白涛. 直肠癌低位前切除术后吻合口瘘的治疗体会. 中外健康文摘 2008; 5: 199

同行评价

本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯

■背景资料

研究者发现, 大肠息肉发生癌变率1.7%-20.8%, 且由于早期无明显症状, 一旦发现往往错过的治疗最佳时机。内镜显著提高了大肠息肉的诊断率和治疗水平, 降低了大肠的癌变率。关于大肠息肉的危险因素, 临床相关报道较多, 但其发病率、危险因素与人种、区域有一定关系, 因此充分认识本区域大肠息肉的临床特征及癌变因素, 对预防直肠癌具有重要的临床意义。

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯, 青海省中医院胃肠镜室 青海省西宁市 810000

张海涛, 主治医师, 主要从事消化内镜的诊断和治疗。

作者贡献分布: 本文由张海涛主要负责; 赵秀珍、孙浩及李凯参与完成。

通讯作者: 张海涛, 主治医师, 810000, 青海省西宁市城中区七一路338号, 青海省中医院胃肠镜室。xnlana-428@163.com

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-09-14

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation

Hai-Tao Zhang, Xiu-Zhen Zhao, Hao Sun, Kai Li

Hai-Tao Zhang, Xiu-Zhen Zhao, Hao Sun, Kai Li, Department of Gastroscopy, Qinghai Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China

Correspondence to: Hai-Tao Zhang, Attending Physician, Department of Gastroscopy, Qinghai Hospital, 338 Qiyi Road, Chengzhong District, Xining 810000, Qinghai Province, China. xnlana-428@163.com

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-09-14

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To summarize the endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps and to analyze risk factors for their malignant transformation.

METHODS: A total of 406 patients with colorectal polyps treated at our hospital were included in this study. The endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps (including age, size, shape, location, and pathological type) were explored and risk factors for their malignant transformation were analyzed.

RESULTS: The elderly group was associated with the highest incidence of colorectal polyps, followed by the middle-aged group and young group. Colorectal polyps were most commonly seen in the sigmoid colon and rectum, and ileocecal polyps were relatively rarely seen. Polyps with a diameter ≤ 1 cm were most commonly seen, and most of them were hyperplastic polyps. Polyps with a diameter of 1-2 cm were mostly adenomas. Polyps with a diameter > 2 cm were

mostly juvenile polyps. Non-lobulated colorectal polyps were more commonly seen. Lobulated polyps were mostly adenomatous, while non-lobulated ones were mostly proliferative. The rate of malignant transformation was significantly higher in the elderly group than in the young and middle-aged groups ($\chi^2 = 10.317, P < 0.05$). Malignant transformation was more commonly seen in the ileocecal junction, rectum, sigmoid colon than in other locations ($\chi^2 = 5.787, P < 0.05$). With the increase in polyp diameter, the probability of malignant transformation increased. The probability of malignant transformation was more commonly seen in adenomas than in other pathologic types ($\chi^2 = 67.183, P < 0.05$), and in lobulated adenomas than in non-lobulated ones.

CONCLUSION: Patients with colorectal polyps should undergo endoscopy to examine the whole colon to carefully observe the shape, size, site of polyps and conduct a biopsy. If possible, polyps should be removed to avoid the occurrence of malignant transformation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal polyps; Malignant transformation; Endoscopy; Pathology

Zhang HT, Zhao XZ, Sun H, Li K. Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2886-2889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2886.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2886>

摘要

目的: 探讨大肠息肉的内镜、病理学特征, 并分析癌变的相关因素。

方法: 将我院治疗的406例大肠息肉患者作为研究对象, 分析大肠息肉发生的年龄、大小、形态、部位、病理类型以及癌变的相关因素。

结果: 老年组发生大肠息肉的比例最高, 青年组大肠息肉发生率最低。大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 无分叶组大肠息肉发生率较高, 其中分叶组以腺瘤性发生率最高, 无分叶组以增生性为主. 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($\chi^2 = 10.317, P < 0.05$); 回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($\chi^2 = 5.787, P < 0.05$); 随着息肉直径增大, 癌变发生率越高; 腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($\chi^2 = 67.183, P < 0.05$); 而分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤.

结论: 临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能检查全大肠, 仔细观察息肉的形态、大小、部位, 并进行病理活检; 如果条件允许, 应该摘除息肉, 避免发生大肠癌变.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大肠息肉; 癌变; 内镜; 病理

核心提示: 本研究中, 老年组发生大肠息肉的比例最高, 其次为中年组, 青年组大肠息肉发生率最低. 大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 这说明息肉大小与病理类型有一定关系.

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯. 大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2886-2889
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2886.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2886>

0 引言

大肠息肉是临床上常见的消化系统疾病, 他是指所有向肠腔突出的赘生物的总称^[1]. 该病无明显特异性^[2], 即使出现某些胃肠道症状, 如腹胀、腹泻、便秘等, 也因较轻微或不典型而被忽视. 研究者发现^[3], 大肠息肉发生癌变率1.7%-20.8%, 且由于早期无明显症状, 一旦发现往往错过的治疗最佳时机. 内镜的应用显著提高了大肠息肉的诊断率和治疗水平, 降低了大肠的癌变率. 关于大肠息肉的危险因素, 临床相关报道较多, 但其发病率、危险因素与人种、区域有一定关系, 因此充分认识本区域大肠息肉的临床特征及癌变因素, 对预防直肠癌具有重要的临床意义. 本文通过对大肠息肉的内

镜、病理特点进行观察, 并分析癌变的危险因素, 以期为临床治疗提供参考, 现将研究成果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-03/2013-03于我院治疗的406例大肠息肉患者作为研究对象, 男264例, 女142例. 年龄17-86岁, 平均年龄47.5岁 \pm 11.4岁. 患者主要临床表现为腹泻、黏液样便、腹绞痛、便血、便秘等. 所有患者均病理学证实, 其中确诊为息肉癌变患者23例, 癌变率5.67%. 按照大肠息肉患者的年龄分为^[4]: 青年组(≤ 40 岁)52例, 中年组(41-59岁)166例和老年组(≥ 60 岁)188例. 按照息肉直径的大小分为 ≤ 1 cm组320例, 1-2 cm组72例和 >2 cm组14例. 根据息肉的形态分为分叶组81例和无分叶组325例.

1.2 方法 采用Olympus CF-H260AI电子结肠镜和PSD-30高频电灼治疗仪, 将结肠镜95%送入盲肠, 镜检观察若息肉直径 <0.5 cm, 则采用活检钳将整个息肉钳取, 并送病理室检查. 若直径 >0.5 cm, 采用高频电灼治疗仪将完整的息肉套切, 送病理室检查; 电灼治疗仪采用混合电流, 按照息肉的大小选择合适的功率, 每次通电3-6 s, 直到息肉被完全切除. 若息肉直径 >2 cm, 则采取分段、分次和分块套切的方法切除息肉, 并送病理检查.

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行检验, 计数资料以率的形式表示, 率的比较采用 χ^2 检验, $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大肠息肉发病率与性别的关系 男性大肠息肉患者264例(65.02%), 女性142例(34.98%), 两者相比差异具有统计学意义, 大肠息肉发病率男性高于女性($\chi^2 = 18.048, P < 0.05$).

2.2 不同年龄段与发病部分的关系 老年组发生大肠息肉的比例最高, 为46.30%, 其次为中年组(40.89%), 青年组大肠息肉发生率最低(12.81%). 大肠息肉在3个年龄段中的发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见(35.96%, 32.02%), 而回盲部息肉的发生几率较小(1.97%)(表1).

2.3 息肉大小与病理类型的关系 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高(78.82%), 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高(69.44%), 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高(57.14%, 表2).

■ 相关报道

报道称, 及时发现并将息肉切除的患者大肠发病率会显著降低, 因此了解大肠息肉的内镜、病理特点和癌变因素可以有效预防和治疗大肠癌发生.

■应用要点

临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能全面检查,仔细观察息肉的形态、大小、部位,并进行病理活检;如果条件允许,应该摘除息肉,避免发生大肠癌变。

表 1 不同年龄段与发病部分的关系 $n(\%)$

分组	直肠	降结肠	乙状结肠	横结肠	回盲部	升结肠	合计
青年组	17(32.69)	6(11.54)	20(38.46)	3(5.77)	3(5.77)	3(5.77)	52(12.81)
中年组	53(31.93)	21(12.65)	57(34.34)	17(10.24)	2(1.20)	16(9.64)	166(40.89)
老年组	60(31.91)	23(12.23)	69(36.70)	19(10.10)	3(1.81)	14(7.45)	188(46.30)
合计	130(32.02)	50(12.32)	146(35.96)	39(9.61)	8(1.97)	33(8.13)	406

表 2 息肉大小与病理类型的关系 $n(\%)$

分组	腺瘤性	增生性	炎性	幼年性	合计
≤1 cm组	134(41.88)	175(54.69)	4(1.25)	7(2.18)	320(78.82)
1-2 cm组	50(69.44)	14(19.44)	3(4.18)	5(6.94)	72(17.73)
>2 cm组	1(7.14)	1(7.14)	4(28.58)	8(57.14)	14(3.45)
合计	185(45.57)	190(46.80)	11(2.71)	20(4.92)	406

表 3 息肉形态与病理类型的关系 $n(\%)$

分组	腺瘤性	增生性	炎性	幼年性	合计
分叶组	49(60.49)	23(28.40)	2(2.47)	7(8.64)	81(19.95)
无分叶组	137(42.15)	167(51.38)	8(2.47)	13(4.00)	325(80.05)
合计	186(45.81)	190(46.80)	10(2.46)	20(4.93)	406

表 4 结直肠息肉癌变相关因素分析

因素	分类	n	癌变率 $n(\%)$	χ^2	P 值
年龄	青年组	52	2(3.85)	10.317	0.001
	中年组	166	6(3.61)		
	老年组	188	15(7.98)		
部位	直肠	130	9(6.92)	5.787	0.016
	降结肠	50	1(2.00)		
	乙状结肠	146	10(6.85)		
	横结肠	39	1(2.56)		
	回盲部	8	1(12.5)		
	升结肠	33	1(3.03)		
	合计	320	9(2.81)		
大小	≤1 cm	320	9(2.81)	97.453	0.000
	1-2 cm	72	10(13.89)		
	>2 cm	14	4(28.57)		
病理类型	腺瘤性	186	21(11.29)	67.183	0.000
	增生性	190	1(0.53)		
	炎性	10	0		
	幼年性	20	1(5.00)		
形态	分叶	81	10(12.34)	4.636	0.031
	无分叶	325	13(4.00)		

2.4 息肉形态与病理类型的关系 无分叶组大肠息肉发生率为80.05%,分叶组为19.95%,说明大肠息肉以无分叶为主;其中分叶组以腺瘤性发

生率最高,无分叶组以增生性为主(表3)。

2.5 大肠息肉癌变相关因素分析 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($P<0.05$);回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($P<0.05$);随着息肉直径增大,癌变发生率越高;腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($P<0.05$);而分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤(表4)。

3 讨论

大肠息肉是临床上常见的消化系疾病,一般男性多见,男女比例为1.17-2.31:1,本组男性患者约占65.02%,明显高于女性患者(34.98%),与单宏波等^[5]报道一致。由于该病无临床特异性,一般表现为腹痛、腹泻、便血和粘液便等,常误诊为痔疮等肛门疾患或“痢疾”而延误其必要的检查。有报道称^[6],及时发现并将息肉切除的患者大肠发病率会显著降低,因此了解大肠息肉的内镜、病理特点和癌变因素可以有效预防和治疗大肠癌的发生。

大肠息肉^[7-9]主要有腺瘤性、增生性、炎性和幼年性息肉。腺瘤性息肉主要结构特点是异型性,体积较大,多为分叶,一般分为管状绒毛腺瘤、绒毛腺瘤和管状腺瘤。增生性息肉常见

于乙状结肠和直肠, 其体积较小, 一般无分叶, 临床特征不明显. 炎症性息肉主要由炎症刺激导致, 多见于大肠感染性疾病, 形态表现为丘状或不规则状, 一般无蒂. 幼年性息肉一般发病年龄较小, 体积较大, 分叶较多. 本研究中, 老年组发生大肠息肉的比例最高, 其次为中年组, 青年组大肠息肉发生率最低. 大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 > 2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 这说明息肉大小与病理类型有一定关系. 分析息肉形态与病理类型的关系发现, 无分叶组大肠息肉发生率为80.05%, 分叶组为19.95%, 说明大肠息肉以无分叶为主; 其中分叶组以腺瘤性发生率最高, 无分叶组以增生性为主.

大量研究均证实^[10,11], 息肉癌变与大小、病理类型、形态均有相关性. 本研究显示, 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($P<0.05$), 这提示要加强老年大肠息肉患者的随访, 定期检查, 从而预防息肉癌变的发生. 另外回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($P<0.05$); 其中回盲部癌变率较高未见其他文献报道^[12], 我们分析可能是因为本组病例较少, 虽然回盲部只有1例发生癌变, 但是比例较高, 因此可能存在一定偶然性. 随着息肉直径增大, 癌变发生率越高. 分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤. 这也说明在条件允许的情况下, 息肉发生在乙状结肠、直肠、息肉较大、分叶以及40岁以上患者均属于息肉癌变的高发人群应该及时切除息肉, 并定期复查, 从而降低癌变的发生率. 近年来大量报道均发现^[13,14]腺瘤性息肉癌变几率较高, 本研究也证实腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($P<0.05$). 腺瘤性息肉中存在大量的异型增生^[15], 而异型增生已被公认为癌变的前期, 最终将发生癌变, 因此我们认为腺瘤性息肉在癌变中起到重要的作用, 临床应该加以重视.

总之, 临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能全面检查, 仔细观察息肉的形态、大小、部位, 并进行病理活检; 如果条件允许, 应该摘除息肉, 避免发生大肠癌变.

4 参考文献

- 1 罗庆峰, 石蕾, 唐永莲, 许乐. 老年大肠息肉患者临床特点、内镜下处理及安全性分析. 中国老年学杂志 2012; 32: 2232-2234
- 2 王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏. 结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗大肠宽蒂和大息肉156例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1838-1841
- 3 Sakamoto T, Mitsuzaki K, Utsunomiya D, Matsuda K, Yamamura S, Urata J, Kawakami M, Yamashita Y. Detection of flat colorectal polyps at screening CT colonography in comparison with conventional polypoid lesions. *Acta Radiol* 2012; 53: 714-719 [PMID: 22821957 DOI: 10.1258/ar.2012.110685]
- 4 Eiró N, González L, González LO, Andicoechea A, Fernández-Díaz M, Altadill A, Vizoso FJ. Study of the expression of toll-like receptors in different histological types of colorectal polyps and their relationship with colorectal cancer. *J Clin Immunol* 2012; 32: 848-854 [PMID: 22371291 DOI: 10.1007/s10875-012-9666-3]
- 5 单宏波, 李再尚, 高晓燕, 徐国良, 韩辉. 大肠息肉腺管开口与息肉组织内胰岛素样生长因子-1受体表达的关系. 中华实验外科杂志 2012; 29: 1388-1390
- 6 姜智敏, 戈之铮, 戴军, 李晓波, 薛寒冰, 赵福嘉, 高云杰. 自发荧光内镜与标准白光内镜在大肠息肉筛查中作用的对照研究. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 173-177
- 7 Cheng H, Zhang T, Gu W, Shu X, Zhang Y, Zhang X, Wu X, Chen J, Jiang M. The presence of *Helicobacter pylori* in colorectal polyps detected by immunohistochemical methods in children. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 364-367 [PMID: 22189526 DOI: 10.1097/INF.0b013e3182467538]
- 8 Ohmi A, Tsukamoto A, Ohno K, Uchida K, Nishimura R, Fukushima K, Takahashi M, Nakashima K, Fujino Y, Tsujimoto H. A retrospective study of inflammatory colorectal polyps in miniature dachshunds. *J Vet Med Sci* 2012; 74: 59-64 [PMID: 21897060]
- 9 徐有坤, 李焕萍, 潘志刚, 印敏, 黄小燕, 丁杰. 扬州地区539例大肠息肉肉状病变临床、病理学特点分析. 苏州大学学报(医学版) 2010; 30: 603-604, 653
- 10 王志军, 杨志勇, 秦国涛, 李祺, 冯艳玲, 马伟艳. 老年人巨大大肠息肉351例内镜诊疗体会. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 106-107
- 11 陈璐, 李静唐, 和兰, 韩全利, 陈英, 杨春敏. 老年人下消化道息肉内镜下治疗分析. 胃肠病学和肝病杂志 2013; 22: 446-448
- 12 毛华, 金少琴. 内镜下大肠息肉切除术后出血的防治. 中国内镜杂志 2012; 18: 1058-1062
- 13 Abbass K, Gul W, Beck G, Markert R, Akram S. Association of *Helicobacter pylori* infection with the development of colorectal polyps and colorectal carcinoma. *South Med J* 2011; 104: 473-476 [PMID: 21886044 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e31821e9009]
- 14 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 吴晓尉, 郭美霞, 王彬. 内镜下黏膜切除术治疗老年及老年前期胃肠道息肉的临床研究. 实用老年医学 2011; 25: 124-127
- 15 Gill MD, Rutter MD, Holtham SJ. Management and short-term outcome of malignant colorectal polyps in the north of England(1). *Colorectal Dis* 2013; 15: 169-176 [PMID: 22709241 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03130.x]

■同行评价

本研究对青藏高原原结肠息肉患者的临床表现、临床病理分型和内镜特征进行总结报道, 虽然病例数不多, 当作为我国西北地区患者病例总结, 有一定的参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



儿童消化系重复畸形诊治19例

李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌

■背景资料

本文通过回顾性分析我院1995-04/2012-08门诊诊断及住院治疗的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 从而探讨消化系重复畸形患儿的临床特点、病理特点、诊断方法、治疗方法及效果。

李慧, 殷宪敏, 泰山医学院附属医院儿内科 山东省泰安市 271001

崔红, 泰安市中心医院彩超室 山东省泰安市 271001

张爱华, 泰安市妇幼保健院儿外科 山东省泰安市 271001

孟斌, 山东大学齐鲁医院病理科 山东省济南市 250012

李慧, 副主任医师, 主要从事小儿神经的相关研究。

作者贡献分布: 李慧为本文主要贡献者; 殷宪敏, 崔红, 张爱华及孟斌参与文章数据的整理。

通讯作者: 李慧, 副主任医师, 271001, 山东省泰安市泰山大街706号, 泰山医学院附属医院儿内科。lihui_xiaohui@163.com

收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-07-30

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases

Hui Li, Xian-Min Yin, Hong Cui, Ai-Hua Zhang, Bin Meng

Hui Li, Xian-Min Yin, Department of Pediatric Internal Medicine, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, Taian 271001, Shandong Province, China

Hong Cui, Color Ultrasonic Room, the Central Hospital of Taian, Taian 271001, Shandong Province, China

Ai-Hua Zhang, Department of Pediatric Surgery, MCH Hospital of Taian, Taian 271001, Shandong Province, China

Bin Meng, Department of Pathology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China

Correspondence to: Hui Li, Associate Chief Physician, Department of Pediatric Internal Medicine, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, 706 Taishang Street, Taian 271001, Shandong Province, China. lihui_xiaohui@163.com

Received: 2013-01-05 Revised: 2013-07-30

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To summarize the clinical features, pathology, diagnosis and treatment of digestive duplication in children.

METHODS: Clinical data for 19 children with pathologically confirmed digestive duplication, who were treated at our hospital from April 1995 to August 2012, were analyzed retrospectively. All patients underwent ultrasound, and 12 patients received CT. All patients underwent surgical treatment.

RESULTS: Main clinical manifestations in-

cluded intestinal obstruction, peritonitis, bleeding and abdominal mass. A cystic mass was found in the abdomen by ultrasound in all patients. Seven cases had typical sonographic manifestations, including thick wall of the cystic mass, a clear boundary of the cystic wall, and a three-layer structure ("strong - weak - strong") of the intestinal wall. The majority (73.68%) of lesions were located in the small intestine. Cyst was the main form of lesions, accounting for 73.68% of all cases. One child died after surgery, and the mortality rate was 5.2%. The remaining patients were followed for 3 mo to 15 years, and their growth and development were normal.

CONCLUSION: Ultrasound is a simple, specific, non-radioactive method for the diagnosis of gastrointestinal duplication, and surgical resection is the best choice of treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Digestive duplication; Children; Clinical features; Diagnosis; Treatment

Li H, Yin XM, Cui H, Zhang AH, Meng B. Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2890-2893
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2890.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2890>

摘要

目的: 探讨消化系重复畸形患儿的临床特点、病理特点、诊断方法、治疗方法及效果。

方法: 回顾性分析我院1995-04/2012-08门诊诊断及住院治疗的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 该组患儿均经超声诊断, 12例行CT检查。全部经手术治疗。

结果: 19例患儿临床多表现为肠梗阻、腹膜炎、出血以及腹块。经超声检查均发现腹部囊性肿物, 其中7例有典型的声像图表现, 呈现为大小不等的厚壁囊性团块, 囊壁的边界清晰,

■同行评议者

施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

肠壁呈“强-弱-强”3层结构特点. 病变主要位于小肠, 有14例, 占73.68%. 病变形态主要为囊肿型14例, 占73.68%. 所有患儿经手术治疗后死亡1例, 死亡率为5.2%. 其余患儿随访3 mo-15年, 生长发育正常.

结论: 超声诊断消化系重复畸形的特异性强, 方法简便, 无放射性, 手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 消化系统重复畸形; 患儿; 临床特点; 诊断; 治疗

核心提示: 根据超声诊断结果对消化系重复畸形患儿实施相应手术, 患儿经治疗后均康复出院, 从而表明超声诊断消化系重复畸形的特异性强, 方法简便, 无放射性, 手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择.

李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌. 儿童消化系重复畸形诊治19例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2890-2893 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2890>

0 引言

消化系重复畸形是小儿常见先天发育胃肠道畸形, 是指与肠壁结构相似的先天性结构重复, 可以发生在消化系的任何部位, 但最常见于回肠^[1]. 消化系重复畸形较少见, 发生率约为1:4000-1:5000, 无特异性临床表现及体征, 常表现为腹痛、呕吐、腹胀、便血、肠梗阻以及腹部肿物等, 多以出现并发症而就诊, 术前确诊率低^[2]. 以往消化系重复畸形多为X线诊断, 近年来发现超声在该病的诊断方面发挥着较大的优势, 可作为术前确诊及术后随访复查的首选方法^[3]. 临床上在明显确诊后首选方法为手术治疗, 往往能收到较好的效果. 为提高儿童消化系重复畸形的诊断率和治疗效果, 现回顾性分析我院1995-04/2012-08诊治的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 19例消化系重复畸形的患儿, 所有病例均超声诊断并经手术病理证实, 其中男15例, 女4例, 年龄1 d-15岁, 其中3岁以内的患儿有12例, 占63.2%. 平均4.5岁±1.4岁, 病程1 d-8年. 19例患儿中以腹块为主要表现者7例, 占36.8%; 以腹

膜炎为主要表现者6例, 占31.5%; 以出血为主要表现者2例, 占10.5%; 以肠梗阻为主要表现者5例, 占26.3%; 以异位开口为主要表现者1例, 占5.2%, 其他3例, 占15.8%. 伴发畸形: 本组有并发畸形者5例, 占26.3%. 畸胎瘤2例, 肛门闭锁, 囊状结肠、脊膜膨出、脐膨出、肠闭锁、脐肠痿及重复肠管各1例, 先天性心脏病2例.

1.2 方法

1.2.1 诊断: 12例行CT检查. 所有患儿均经彩色多普勒超声检查, 使用PHILLIPS IU22型彩色多普勒超声诊断仪, 探头频率为7.5 MHz, 取仰卧位, 行常规腹部扫查, 不合作的患儿口服10%水合氯醛0.5-0.7 mL/kg, 入睡后进行观察. 先用凸阵探头扫查, 然后用高频线阵探头在病变区域纵向、横向及多方位扫查, 观察包块的部位、大小、形态、边界是否清晰、内部回声的均匀程度、纵横比、侧方及后方回声有无衰减及有无钙化, 病变与周围肠管的关系, 并改变患儿体位观察包块活动度. 然后在病灶区做彩色多普勒检查, 观察肿块内部及周边血流分布、血流信号丰富程度等. 管状型要用高频探头观察消化系黏膜, 追踪大致长度, 并观察周围系膜有否增厚粘连, 从而判断是否继发感染穿孔等. 囊肿型重复先用低频探头观察病变全貌, 之后采用高频探头观察腔内情况及囊壁以及与周围肠管的关系, 从而判断是否扭转及继发梗阻.

1.2.2 治疗: 全部患儿均经手术治疗, 单纯囊壁剥除3例, 囊肿切除4例(切除囊肿性重复肠管时, 对有共壁的小肠, 应尽力保护好平行的正常小肠的血供, 仅切除重复的小肠, 必要时仅切除重复小肠的黏膜肌层, 保留浆膜层), 单纯重复肠道切除术2例, 合并肠管切除7例, 左半结肠切除+间隔切除术1例, 全结肠直肠合并切除1例, 重复直肠部分切除+结肠开窗术1例, 胃黏膜剥除术+部分胃切除+囊膜封闭1例, 开窗内引流1例. 如果先剖腹发现有胸腹贯通性的消化系畸形, 应尽可能一次完成手术. 如胸部症状明显先剖胸手术, 切除胸部重复的肠管, 尽量切除到膈肌以下.

2 结果

2.1 诊断 继发性病变: 肠套叠5例, 肠梗阻5例(其中3例为腔内型继发梗阻), 肠扭转3例, 肠穿孔1例, 感染1例. 19例中1例超声提示需与炎性肠病鉴别, 1例超声提示需与肠系膜囊肿鉴别, 其余术前超声均诊断为消化系重复畸形. 超声声像图表现: (1)13例患者超声表现为囊性团块, 边界

■ 研发前沿

本文术前对患儿采用超声诊断, 并根据诊断结果对患者实施相应的手术, 目前国内对重复畸形患儿诊断主要采用CT检测, 而本研究在CT诊断的基础上应用超声诊断, 提高了患儿术前诊断准确率, 有利于手术的开展.

■相关报道

李恭才、陈琦等均对消化系统重复畸形患儿行超声检查,并根据超声诊断结果对患儿实施手术,患儿均获得较理想的治疗效果,本研究的结果与文献报告一致。

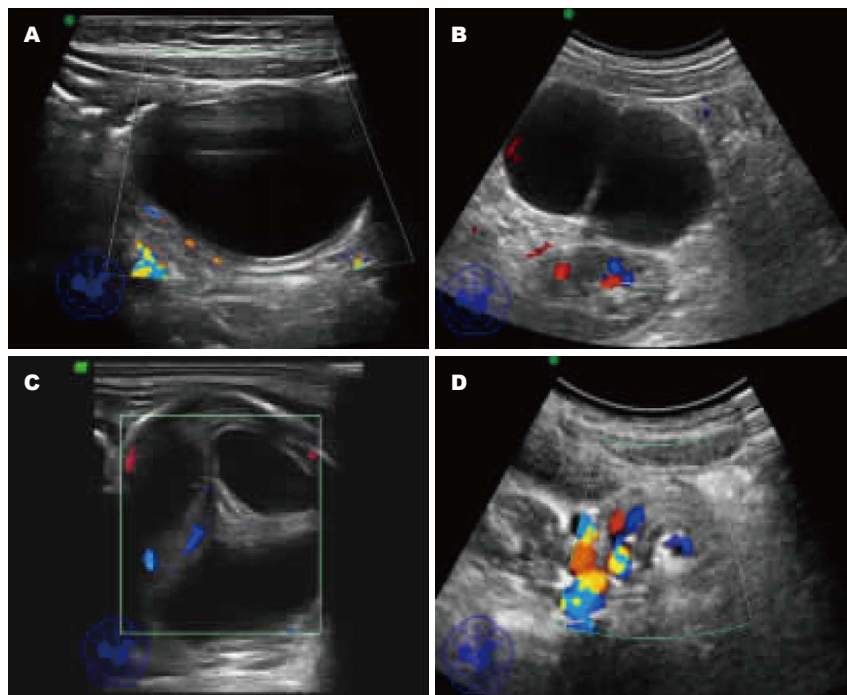


图1 重复畸形患儿超声诊断。A: 囊性团块, 边界清晰; B: 薄壁囊性团块, 边界不清晰囊中大小不等, 直径为2-11 cm, <5 cm; C: 右侧胸腔内肠管样回声; D: 肠系膜血管走行。

清晰, 囊中大小不等, 直径为2-11 cm, <5 cm者有7例(图1A)。肠壁呈现出较为典型的“强-弱-强”3层结构特点。彩色多普勒超声显示出囊壁丰富的血流新信号; (2)2例患者呈薄壁囊性团块, 边界不清晰, 可见分割样回声, 为显示典型的“强-弱-强”3层结构, 彩色多普勒超声未检测到有明显的血流信号(图1B); (3)1例超声下显示肠管扩张, 可见蠕动, 右侧胸腔内肠管样回声, 彩色多普勒超声可见点状血流信号(图1C); (4)其他: 1例仅表现为少量腹腔积液, 1例仅表现为部分肠管扩张、积液。 (5)3例肠扭转的患儿中1例显示肠系膜血管走行异常(图1D), 5例肠套叠患儿均显示出较为典型的肠套叠声像图, 1例肠穿孔的患儿无明显异常表现。

2.2 病理特点 19例均可见肌层, 16例重复畸形黏膜性质与主肠管相似。病理类型: 囊肿型14例, 占73.68%, 壁厚0.2-0.4 cm。其中壁外囊肿12例, 壁内囊肿2例。管状型5例, 占26.3%, 其中肠外管状型3例, 憩室型2例。病变位置: 食道1例(为囊肿型), 胃2例(全部为囊肿型, 其中1例在小网膜囊内, 1例经食管裂孔进入胸腔), 十二指肠2例(管状型1例, 囊肿型1例), 阑尾1例(为管状型), 小肠7例(囊肿型6例, 管状型1例; 回肠6例, 空肠1例), 结肠3例(囊肿型2例, 管状型1例), 直肠2例(囊肿型1例, 管状型1例), 回盲部1例(为囊肿型)。

2.3 手术治疗 19例患儿中14例通过手术一次即获得明确诊断并予切除治愈, 另外5例经历2次以上的手术(多为以肠梗阻腹膜炎为主要表现者,

由于术后发生粘连性肠梗阻需再次手术)。术后患儿全部存活, 经随访3 mo-15年, 生长发育正常。**2.4 手术与超声对照** 对于5例管状型患儿, 超声定位准确, 但判断重复长度与手术存在差异, 术中见到最长1例重复肠管达140 cm。术中见到回肠粗大1例, 而超声进表现为肠黏膜增厚。1例结肠重复, 重复的结肠无回盲瓣及阑尾。14例囊肿型患儿, 手术与超声表现无显著性差异。其中2例继发性扭转, 因囊中遮挡超声未能明确诊断, 进一步诊断为合并肠梗阻。

3 讨论

消化系统重复畸形是小儿较少见的先天性消化系统畸形, 绝大多数发生在新生儿及幼儿时期, 本研究中3岁以内的患儿有12例, 占63.2%。平均4.5岁±1.4岁, 病程1 d-8年。消化系统重复畸形以回肠末端为好发部位, 其次是食管, 结肠、十二指肠、胃、直肠等^[4], 本研究中回肠发病者有6例, 占31.5%。其基本病理类型可分为肠外囊肿型、肠内囊肿型和管状型, 其中以肠外囊肿类型最多见, 约有80%。本研究中肠外囊肿有12例, 占63.2%。

重复的消化系统外观呈球状或管状, 大部分为囊状, 少数为管状, 消化系内长充满液体, 在大多数情况下, 囊腔与正常肠腔不相通^[5]。消化系统重复畸形的临床表现取决于畸形发生的部位、大小、病理分型以及有无异位的胃黏膜及胰腺组织。其发病的部位, 形状、大小各不相同, 临

床上的表现各不相同,大多数表现为急性肠梗阻、消化系出血、肠穿孔腹膜炎等并发症或呼吸道症状^[6],加之并发症如:消化系出血、消化系梗阻、腹部包块、腹膜炎较多,故诊断有一定困难,文献报告术前确诊率仅20%-30%^[7]。

随着超声技术的迅速发展,特别是彩色多普勒超声技术的不断发展,其在早期发现、早期诊断和早期治疗消化系重复畸形中发挥着越来越重要的作用。对于腹部肠重复畸形,常规腹部超声即可观察清楚,其表现的生理基础为重复的肠管与正常肠管壁一样具有黏膜层、肌层和浆膜层3层结构。消化系重复畸形的超声表现按形态可为囊肿型和管状型。典型的囊肿型重复畸形超声表现为腹腔内囊性包块,腔内无回声囊腔,边界清,壁较厚,约2-4 mm,并且薄厚均匀,囊腔无分割,液体清亮。囊肿邻近肠管明显受压,与囊壁紧贴。囊壁呈3层,由外至内呈强、弱、强回声,即双环征^[8],这是肠重复畸形特征性的超声表现,本组绝大多数患儿有此典型的临床表现。由于重复畸形囊肿壁内存在发育良好的平滑肌,部分患者更可观察到囊肿蠕动收缩。囊肿型患儿临床上常表现为反复腹痛、呕吐、腹胀等肠梗阻症状。管状型与正常肠管有相似之处,但其壁厚、形态僵硬固定,较易辨认。管状型重复畸形的超声表现为:腹腔内管道状,壁较厚,厚度2-8 mm,迂曲,张力低,大多充盈液体,更容易判断为消化系的壁。在消化系重复性囊肿较小,隐匿于肠间并受肠气干扰时,可利用超声的高频线阵探头采用逐级加压法,能够充分显示团块与肠管的关系,识别囊壁回声及血流特点^[9]。本组患儿中管状型全部定位准确,囊肿型有11例定位准确。为进一步提高术前诊断率,在临床上有以下情况出现时应该作为可疑消化系重复畸形建议进行B超或CT检查:(1)小儿腹部触及囊性肿块,尤其是肠管状肿块者;(2)小儿以腹胀、呕吐等肠梗阻表现就诊者;(3)出现原因不明的慢性不完全性肠梗阻,尤其是伴有血便者。影像学检查虽有助于术前诊断,但最终需要由剖腹探查和病理检查确诊。

消化系重复畸形囊肿可发生恶变,因此,诊断确立后需要立刻进行手术治疗。手术是诊断和治疗消化系重复畸形的可靠方法,19例患儿

中14例通过手术一次即获得明确诊断并予切除治愈。一般认为重复畸形的肌纤维与主肠壁的肌纤维混杂无明显分界,其循环也与所附着的肠管不能分离^[10]。手术的原则是仔细探查,争取最大限度地保留肠管,不留后遗症。手术的方式应该根据重复畸形的解剖情况而定,手术的原则是尽量保留主肠管的血运。就目前而言,对于与正常消化系不相通又无粘连的重复畸形采用单纯重复畸形切除术;小肠、结肠重复畸形及部分胃重复畸形采用重复肠管与其依附的正常肠管切除术;对于共壁的消化系重复畸形采用开窗式内引流术;对于管状重复畸形及部分胃重复畸形,采用中隔部分切除术。有研究认为,消化系重复畸形在多数情况下都难以单纯切除,而需要行邻近的主肠管部分切除,而对于需切除肠管过多、估计术后会出现严重并发症者,尚有必要尝试尽量保留正常肠管^[11]。本组患儿均采用手术治疗,结合具体情况选择手术方式,19例患儿经手术治疗后全部存活,经随访3 mo-15年,生长发育正常。

总之,超声诊断消化系重复畸形的特异性强,方法简便,无放射性,手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择。

4 参考文献

- 1 李恭才,高亚,李鹏,李磊,罗少波,施伟栋. 消化道重复畸形的诊断和治疗. 临床小儿外科杂志 2002; 1: 10-11
- 2 陈琦,孙雪花,吴学军,杨险峰,黄岩,张书峰. 小儿消化道重复畸形89例临床分析. 郑州大学学报(医学版) 2005; 40: 1165-1167
- 3 魏临淇. 魏秀清消化道重复畸形临床分析(附76例报告). 北京医学 2000; 22: 160
- 4 杜太平,吕淑宏,吕书珍. 肠重复畸形的诊断与治疗. 实用儿科临床杂志 2002; 17: 380
- 5 Teklali Y, Kaddouri N, Barahoui M. [Gastrointestinal system duplications in children (19 cases)]. *Arch Pediatr* 2002; 9: 903-906 [PMID: 12387170]
- 6 付桂兵,麻晓鹏,王斌. 婴幼儿回盲部肠重复畸形临床分析. 临床小儿外科杂志 2005; 4: 376-377
- 7 谭雄,易朝峰,尹强. 回盲部肠内囊肿型肠重复畸形7例诊疗体会. 临床小儿外科杂志 2008; 7: 76
- 8 胡烈榛,夏培,于红奎,林州,陶宏伟,刘力,冯霞,刘磊. 小儿消化道重复畸形超声诊断价值. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 08: 2196-2210
- 9 陈小知,黄福光,潘尹肠. 重复畸形的超声诊断. 中国超声诊断杂志 2006; 7: 108-110
- 10 施伟栋,张晋楚,罗少波,刘延黎,贾新建,孙利群. 儿童胸腹腔消化道重复畸形8例诊治分析. 陕西医学杂志 2003; 32: 72-73
- 11 孙俊杰,莫家颢,刘钧澄,余锦标,潘翠玲. 消化道重复畸形12例. 实用儿科临床杂志 2006; 21: 1589-1590

■同行评价

本文具有一定的实际应用意义,能有效地将消化系重复畸形患儿诊治措施阐述清晰,对基础医院开展同类手术具有一定实际指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Felty综合征合并肝硬化1例

俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾

■背景资料

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型, 临床少见。

俞蕾敏, 陈锦龙, 浙江萧山医院消化内科 浙江省杭州市 311202

吕宾, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科 浙江省杭州市 310006

俞蕾敏, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的诊治及消化内镜的操作。

作者贡献分布: 收集整理资料与论文写作由俞蕾敏完成; 完善病例讨论内容由陈锦龙与吕宾完成。

通讯作者: 俞蕾敏, 主治医师, 311202, 浙江省杭州市萧山区育才北路728号, 浙江萧山医院消化内科. yulei369@sina.com
电话: 0571-83865191

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-13

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature

Lei-Min Yu, Jin-Long Chen, Bin Lv

Lei-Min Yu, Jin-Long Chen, Department of Gastroenterology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou 311202, Zhejiang Province, China

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

Correspondence to: Lei-Min Yu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, 728 Yucai North Road, Xiaoshan District, Hangzhou 311202, Zhejiang Province, China. yulei369@sina.com
Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-13
Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

Felty's syndrome is a rare special type of rheumatoid arthritis. Felty's syndrome with liver cirrhosis is even rarer. Here we report a case of felty's syndrome with liver cirrhosis that was diagnosed based on the analysis of clinical manifestations and laboratory and imaging findings. For patients with liver cirrhosis of unknown cause, Felty's syndrome should be considered if they have rheumatoid arthritis, neutropenia and splenomegaly.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Felty's syndrome; Liver cirrhosis

Yu LM, Chen JL, Lv B. Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2894-2896

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2894.asp>

DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2894>

摘要

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型。Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。通过分析本例病例的临床表现及辅助检查结果, 明确肝硬化原因由类风湿性关节炎引起。对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Felty综合征; 肝硬化

核心提示: 对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征。

俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾. Felty综合征合并肝硬化1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2894-2896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2894.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2894>

0 引言

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型, 约占类风湿性关节炎患者1%左右, 临床少见。Felty综合征发病多为40-70岁的慢性类风湿性关节炎患者, 亦有个别幼年发病者^[1]。白人发病率高于黑人, 男、女比例约为1:3, 一般男性患者病程相对较短。Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。本文报告1例并结合文献进行复习。

1 病例报告

患者, 女性, 55岁, 因“呕血3 d”于2013-4-10入院。既往有“类风湿性关节炎(类风湿因子RF阴性)”病史30余年, 长期不规则服用“双氯芬酸片25 mg/d, 口服”止痛。入院查体: T 36.2 °C, P 80次/min, R 20次/min, BP 145/80 mmHg, 神志清、精神软, 贫血貌, 皮肤巩膜黄染不明显, 未见肝掌及蜘蛛痣, 双侧锁骨上淋巴结未及肿大,

■同行评议者

董蕾, 主任, 教授, 西安交通大学第二附属医院消化内科



图1 患者下肢踝关节僵硬畸形。



图2 患者上肢指间关节、掌指关节僵硬畸形(“天鹅颈”畸形)。

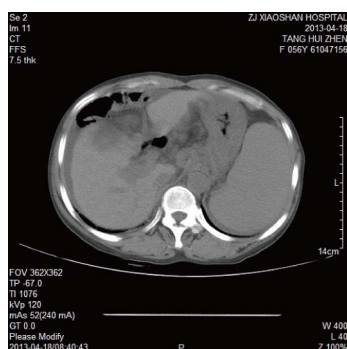


图3 腹部CT。

双肺呼吸音清, 未闻及干湿罗音, 心率80次/min, 律欠齐, 1 min可闻及1-2次早搏, 未闻及杂音, 腹软, 外形膨隆, 未见胃肠型及蠕动波, 无压痛, 无反跳痛, 肝脾触诊不满意, Murphy征阴性, 未及包块, 移动性浊音阳性, 肠鸣音5次/min, 振水音阴性, 双下肢无水肿, 双侧巴氏征阴性, 肛门指检未触及肿块, 指套染有暗红色血便, 下肢踝趾关节(图1)、上肢指间关节、掌指关节僵硬畸形(图2), 有晨僵现象。辅助检查: 血常规: WBC $3.26 \times 10^9/L$, Hb 59 g/L, 血小板(blood platelet, PLT) $54 \times 10^9/L$, CRP 11 mg/L; 血沉23 mm/第1小时末, RF阴性; 肌钙蛋白0.035 ng/mL, 心肌酶谱: CK-MB 30.6 U/L; 凝血功能: PT 14.1 s, Fbg 1.399 g/L, D-二聚体2.46 g/L; 肝纤4项: HA 289.11 $\mu g/L$, 余正常范围内; 甲型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、庚型肝炎抗体阴性; 乙型肝炎三系: HBsAg阴性, HBsAb阳性, HBeAg阴性, HBeAb阴性, HBcAb阳性; HBV DNA低于检测下限; 肝功能: 白蛋白(albumin, Alb) 23.54 g/L, 总胆红素(total bilirubin, TBIL) 47.4 $\mu mol/L$, 结合胆红素(conjugated bilirubin, DBIL) 15.2 $\mu mol/L$, 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) 30.5 U/L, 谷草转氨酶(glutamic oxalacetic aminophosphatase, AST) 54.8 U/L, 碱性磷酸酶(alkalinephosphatase, ALP) 285 U/L; 胆碱酯酶(cholinesterase, CHE) 2664 U/L; ASO、SCC、CA72-4、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA125、CA199、CA153、空腹血糖、血淀粉酶、甘油三酯、血钾、糖化血红蛋白正常范围内; 抗核抗体阴性; 幽门螺杆菌抗体阳性; 肾功能: 血尿素氮(blood ureanitrogen, BUN) 7.04 mmol/L, CR 57.3 $\mu mol/L$; 粪便隐血阳性++++, 褐色软便。胸部CT平扫: 两肺未见明显实质性病变, 右侧少量胸水, 附见腹水。胃镜: 慢性浅表性胃炎, 食管静脉重度曲张伴红色征。上腹部CT增强: 右肝血管瘤考虑, 肝硬化、脾肿大, 门脉高压, 腹水, 食道-胃底静脉曲张(图3)。床边B超: 肝硬化图像, 胆囊水肿, 门静脉增宽, 脾肿大。心电图: 窦性心律。治疗予以输A型RH阳性红细胞4单位; 抑酸止血: 埃索美拉唑针40 mg, 每8 h 1次, 静推; 保护胃黏膜: 硫糖铝混悬液10 mL, 4次/d, 口服; 减少内脏血流止血: 奥曲肽针50 $\mu g/h$ 微泵静推维持; 预防感染保护胃黏膜防止出血: 头孢噻肟针2.0, 2次/d, 静滴; 补充白蛋白: 白蛋白针10 g, 每日1次, 静滴; 升白细胞: 小檗胺片112 mg, 3次/d, 口服; 补充维生素: 脂溶性维生素/水溶性维生素针14 mL, 1次/d, 静滴; 调节肠道菌群: 复方嗜酸乳杆菌片1.0片, 3次/d, 口服; 利尿: 呋塞米片20 mg, 1次/d, 口服及螺内酯片40 mg, 2次/d, 口服; 护肝: 复方甘草酸苷针160 mg, 1次/d, 静滴及多烯磷脂酰胆碱注射液10 mL, 1次/d, 静滴; 补液支持治疗。经上述治疗后, 患者3 d后粪便颜色转黄, 提示消化道出血停止, 复查腹部B超: 肝硬化图像、门静脉稍宽、脾肿大, 胆囊壁稍毛糙, 腹腔内未见明显积液; 复查肝功能: ALB 31.23 g/L, TBIL 20.4 $\mu mol/L$, DBIL 9.7 $\mu mol/L$, ALT 19.8 U/L, AST 38.7 U/L, ALP 223.9 U/L; 血常规: WBC $2.3 \times 10^9/L$, Hb

■研发前沿

通过对Felty综合征合并肝硬化这一病例及文献复习, 希望能提高临床医师对此疾病的认识。

■相关报道

Felty综合征(Felty's syndrome)于1924年由美国医生Augustus Roy Felty首次报道, 1932年Hanrahan把具有类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、粒细胞减少和脾大的三联征称为Felty综合征, 又称作晚发型类风湿性关节炎、类风湿性关节炎脾肿大综合征、关节肝脾综合征或关节炎-粒细胞减少-脾大综合征。Felty综合征发病多为40-70岁的慢性类风湿性关节炎患者, 亦有个别幼年发病者。

■创新盘点

Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。

81 g/L, PLT 52×10^9 /L, C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)2.78 mg/L. 予以出院, 出院诊断为: 类风湿性关节炎、Felty综合征、肝硬化失代偿期、食管胃底静脉曲张破裂出血。

2 讨论

Felty综合征(Felty's syndrome)于1924年由美国医生Augustus Roy Felty首次报道, 1932年Hanrahan把具有类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、粒细胞减少和脾大的三联征称为Felty综合征, 又称作晚发型类风湿性关节炎、类风湿性关节炎脾肿大综合征、关节肝脾综合征或关节炎-粒细胞减少-脾大综合征^[2]。

本病临床表现: (1)关节病变: 本病除包括类风湿性关节炎的常见表现如关节肿痛、畸形外, 一般在其关节炎出现数年到数十年以上出现关节外症状。典型病例其手部小关节(特别是近端指间关节和掌指关节), 足、腕、肘及踝关节呈对称性受累, 但最初表现可发生在任何关节。晨起后或长时间休息后关节僵硬超过30 min者常见, 关节畸形可发展迅速, 尤其是屈曲挛缩、手指尺侧偏移; (2)肝脾肿大及肝功能损害: 患者可有轻中度肝脏肿大, 发生肝功能损害, 并有门脉高压症、胆汁淤积以及肝硬化等表现, 与肝脏结节性再生有关, 肝内微血管闭塞导致局部缺血, 为了维持肝脏功能, 肝脏再生形成结节^[3], 从而引起门脉高压。此外也可能与类风湿血管炎累及肝脾血管引起肝硬化相关^[4]。大部分脾脏肿大患者在关节症状出现数十年之后才出现脾大, 也有少数患者脾大和粒细胞减少发生在关节炎之前; (3)小血管炎: 如肢端溃疡、紫癜等, 皮肤感染后可并发溃疡, 通常位于小腿胫前及踝部, 且溃疡较深; (4)感染: 由于长期粒细胞缺乏、激素和免疫抑制剂的使用, 患者在病程发展过程中可合并感染如胸膜炎、周围神经炎等, 少数有葡萄球菌或链球菌引起的皮肤炎、呼吸道和口腔反复感染, 还可继发真菌感染。Sienknecht等提出其诊断标准^[5]: (1)符合类风湿性关节炎诊断标准; (2)查体或同位素扫描发现脾肿大; (3)白细胞总数<4000或血小板<10万; (4)无其他原因解释脾肿大或粒细胞减少。

本例患者存在肝硬化, 但肝硬化原因无法解释。根据乙型肝炎三系及肝炎系列结果, 排除肝炎肝硬化; 患者无嗜酒史, 排除酒精性肝硬化;

抗核抗体阴性, 排除自身免疫性肝病; 患者无肥胖、糖尿病、高甘油三酯血症、体重极度下降等病因, 结合CT及B超检查结果, 排除非酒精性脂肪性肝炎引起的肝硬化; 既往无中毒性肝炎表现, 排除药物引起的肝硬化; 患者无遗传及代谢疾病, 故排除此病因引起的肝硬化。故结合该患者具有长期类风湿性关节炎病史, 存在门脉高压、脾大、白细胞减少等症状及无法解释的肝硬化原因, 从疾病一元化因素诊断为Felty综合征。

本症少数患者可自然缓解, 在几年内可无症状, 但自愈的可能性极小。Felty综合征的主要治疗手段为肾上腺糖皮质激素及甲氨蝶呤、环磷酰胺、来氟米特、柳氮磺胺吡啶、金制剂等免疫抑制剂的联合使用, 还包括肿瘤坏死因子 α 、静脉用人血丙种球蛋白。Felty综合征合并肝硬化引起上消化道出血临床较为罕见。对于已经存在肝硬化引起食管胃底静脉曲张破裂出血的病例, 以降低门脉压力、抑酸、补液等为主要治疗手段, 虽然Felty综合征患者接受腹腔镜下行脾切除术已有成功报道^[6], 但只能收到暂时的效果。

对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征, 通过这一病例及文献复习, 希望能提高临床医师对此疾病的认识。本例患者仍在密切随访中。

3 参考文献

- 1 Bloom BJ, Smith P, Alario AJ. Felty syndrome complicating juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 20: 511-513 [PMID: 9787332 DOI: 10.1097/00043426-199809000-00022]
- 2 王婧, 段婷, 阴祯宏. Felty综合征. 国际外科学杂志 2009; 36: 418-420
- 3 Perez Ruiz F, Orte Martinez FJ, Zea Mendoza AC, Ruiz del Arbol L, Moreno Caparros A. Nodular regenerative hyperplasia of the liver in rheumatic diseases: report of seven cases and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 1991; 21: 47-54 [PMID: 1948101 DOI: 10.1016/0049-0172(91)90056-6]
- 4 陈灏珠. 实用内科学. 第13版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 2712
- 5 Sienknecht CW, Urowitz MB, Pruzanski W, Stein HB. Felty's syndrome. Clinical and serological analysis of 34 cases. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 500-507 [PMID: 596944 DOI: 10.1136/ard.36.6.500]
- 6 Rosen M, Brody F, Walsh RM, Tarnoff M, Malm J, Ponsky J. Outcome of laparoscopic splenectomy based on hematologic indication. *Surg Endosc* 2002; 16: 272-279 [PMID: 11967677 DOI: 10.1007/s00464-001-8150-6]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

属于少见病例, 可以发表, 以提高临床医生对本病的认识, 提高诊断率。



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10⁻³ g与5 × 10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈光 教授
吉林大学第一医院消化器官外科

迟宝荣 教授
吉林大学第一医院消化内科

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

丁惠国 教授
首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

杜雅菊 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

黄晓东 主任医师
武汉市中心医院消化内科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李永翔 教授
安徽医科大学第一附属医院普外科

刘颖斌 主任医师
上海交通大学医学院附属新华医院

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马欣 主任医师
甘肃省人民医院消化科

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

孙诚谊 教授
贵阳医学院附属医院院长办

万军 教授
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

王江滨 教授
吉林大学中日联谊医院

王蔚虹 教授
北京大学第一医院消化内科

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

宣世英 教授
山东省青岛市市立医院肝病内科

颜宏利 教授
中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

张庆瑜 教授
天津医科大学总医院科研处

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

赵青川 主任医师
西京医院消化外科

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

